This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

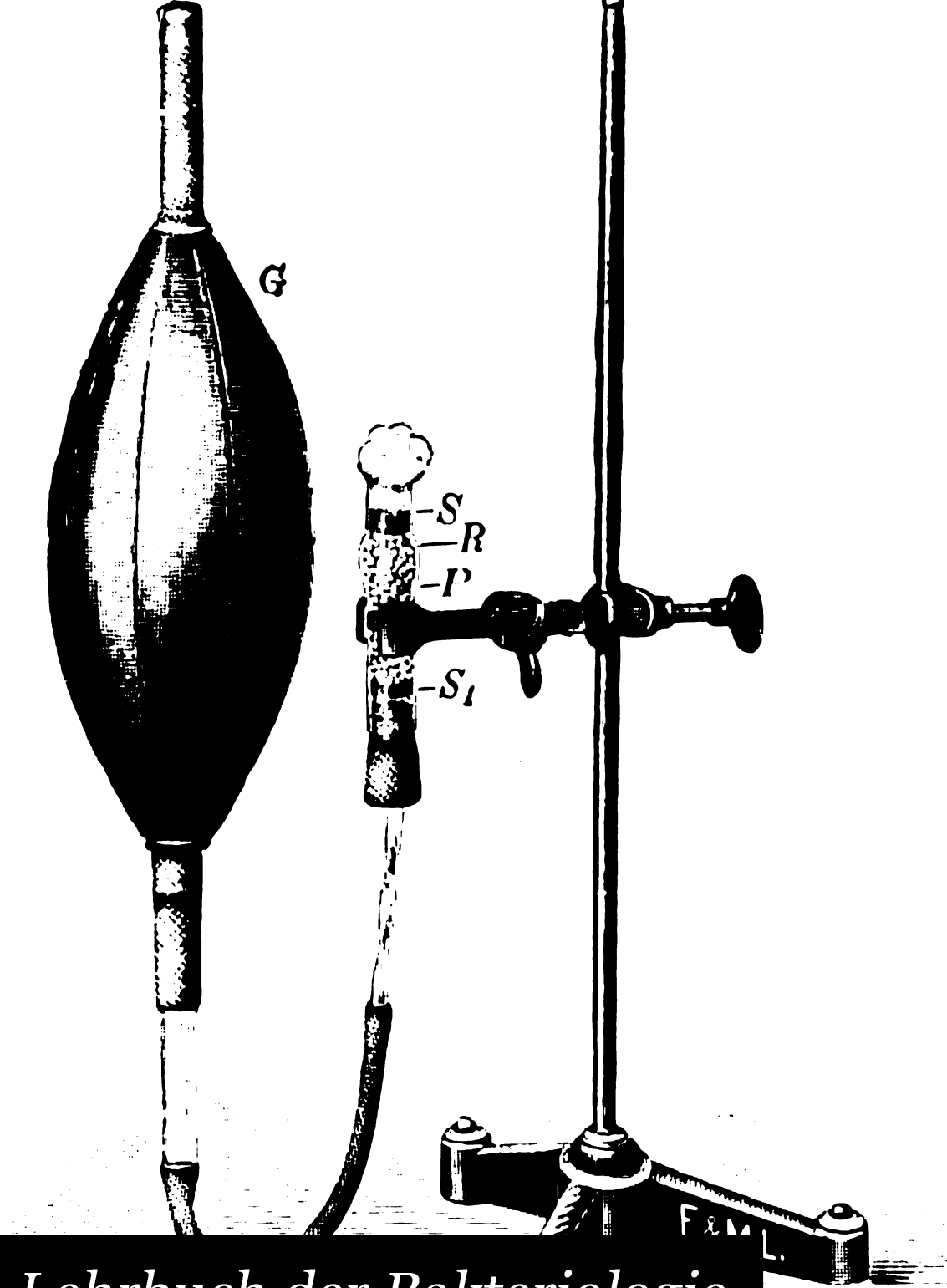
+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`



Lehrbuch der Bakteriologie

Ludwig Heim

Digitized by Google

Main Lib
BACTERIOLOGY DEPT.
UNIVERSITY OF CALIFORNIA
BIOLOGY LIBRARY G

Digitized by Google

Digitized by Google

LEHRBUCH

DER

BAKTERIOLOGIE

MIT BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER

UNTERSUCHUNGSMETHODEN, DIAGNOSTIK UND IMMUNITÄTSLEHRE.

VON

DR. LUDWIG HEIM,
o. ö. PROFESSOR,
DIREKTOR DES HYGIENISCH-BAKTERIOLOGISCHEN INSTITUTS DER K. UNIVERSITÄT ERLANGEN.

Dritte, vollständig umgearbeitete Auflage.

Mit 233 Abbildungen im Text
und 13 mikrophotographischen Tafeln.

STUTTGART.
VERLAG VON FERDINAND ENKE.
1906.

Digitized by Google

QR41
H39
1906

BIOLOGY
LIBRARY
G

Marine Lib.

Druck der Union Deutsche Verlagsgesellschaft in Stuttgart.

Digitized by Google

Vorwort.

Die Fortschritte in der Bakteriologie sind im letzten Jahrzehnt so bedeutend gewesen, die Untersuchungsmethoden haben so viele Neuerungen, Aenderungen und Verbesserungen erfahren, daß eine Ergänzung der früheren Auflage nur ein Flickwerk zu Tage gefördert hätte. Darum habe ich auf den bisherigen Text verzichtet und das Buch neu geschrieben. Unter Weglassung alles überflüssigen Beiwerks und durch Sorge für möglichste Kürze in einfachen und untergeordneten Dingen wurde versucht, das Wichtigste ausführlich und doch knapp zu bringen, so daß der ursprüngliche Umfang nicht gewachsen ist; gegenüber der 2. Auflage ist er sogar nicht unerheblich vermindert worden. Dagegen haben die Abbildungen im Text und die Photogramme, die diesmal anstatt in Lichtdruck in Autotypie reproduziert worden sind, eine Bereicherung erfahren.

Seuchenlehre und Epidemiologie sind in meinem in dem gleichen Verlage erschienenen „Lehrbuch der Hygiene" abgehandelt. Das vorliegende Lehrbuch enthält die Untersuchungsmethoden zur Erkennung und Verhütung ansteckender Krankheiten. Es soll jedem, der sich mit bakteriologischen Arbeiten befassen will, ein zuverlässiger Führer und Berater sein, dieser Grundsatz hat mich von Anfang an und so auch diesmal geleitet. Die medizinische Bakteriologie einschließlich der Immunitätslehre sollte in einem Guß unter besonderer Berücksichtigung der Technik zur Darstellung gelangen. Ich habe mich bemüht, die Schilderung so zu gestalten, daß ein Untersucher an ihrer Hand das anfallende Material sachgemäß zu bearbeiten im stande sei und nicht erst auf ein langwieriges Suchen in Zeitschriften und auf die Einholung des Rates eines Erfahreneren bei jedem Schritte angewiesen ist. Für die weitere Verfolgung einer Frage dienen die Hinweise auf die Literatur, unter denen bei zahlreicher vorhandenen Abhandlungen über einen Punkt die Auswahl so getroffen worden ist, daß die übrigen ohne Mühe ermittelt werden können. Selbst dem Fachmanne dürfte mitunter die rasche Uebersicht über ein Teilstück oder die leichte Auffindung einer Vorschrift willkommen sein, denn schließlich hält bei

217896

Digitized by Google

der Fülle des Gedruckten auch das beste Gedächtnis nicht lückenlos vor.

Viele Veröffentlichungen leiden an bedenklichen Weitschweifigkeiten, die es möglicherweise mit sich gebracht haben, daß das oder jenes, was die Verfasser festgelegt wissen wollten, hier nicht erwähnt worden ist. Beschränkung im Umfang auf ein der Wichtigkeit entsprechendes Maß wäre heute mehr denn je am Platze. Beim Durchgehen der Literatur hatte ich ferner da und dort unzureichende Sorgsamkeit im Ausdruck, im Stil oder in der Darstellung zu beanstanden. Mehrfach trat die Art der Literaturverweise störend entgegen, so der Gebrauch oder Mißbrauch von „a. a. O.“, die Zitierung nach Jahrgängen von Zeitschriften, bei denen mehrere Bände im Jahre erscheinen, die Aufführung von Nummern der Wochenschriften oder von Heften ohne Seitenzahlen und die Weglassung der Vornamen, sogar seitens der Verfasser selbst: Möchten die Herren Rezensenten, die ja alle das Vorwort lesen, diese Punkte mit in ihre Kritik aufnehmen, vielleicht werden dadurch einige Autoren zu schonenderer Kürze veranlaßt und den Lesern künftighin Umständlichkeiten, Zeitverluste und Aerger erspart!

Laboratoriumseinrichtungen und Apparatenkunde sind der Neuzeit entsprechend geschildert worden. Bei der Bearbeitung der einschlägigen Abschnitte habe ich mich der Mithilfe der Firma F. & M. Lautenschläger in Berlin zu erfreuen gehabt, der ich nicht allein eine Reihe von Abbildungen, sondern auch wertvolle Ratschläge hinsichtlich der Anlage und Ausstattung von bakteriologischen Arbeitstätten im allgemeinen und der Beschreibung von Zentrifugierungs-, Brüt- und Desinfektionsapparaten im besonderen verdanke.

Möge die vorliegende Zusammenfassung unserer Kenntnisse und des Standes der bakteriologischen Wissenschaft mancheinem als Grundlage dienen, um neue Wege zu erfolgreichen Arbeiten auf dem aussichtsvollen Gebiete der Forschung über Ursache, Verhütung und Heilung der Infektionskrankheiten leichter zu finden!

Erlangen, im Juli 1906.

L. Heim.

Digitized by Google

Inhaltsübersicht.

I. Die Untersuchungen im allgemeinen und ihre Hilfsmittel.

Seite

Die mikroskopische Untersuchung 1

Das Mikroskop 1

Mechanischer Teil 1. Optischer Teil 4. Winke für den Gebrauch 10. Auswahl 11.

Sonstige Gebrauchsgegenstände und Hilfsmittel 13

Zentrifugen 31

Die Abfiltrierung der Keime. Hart- und Weichfilter 34

Die Untersuchung im hängenden Tropfen 37

Die färberische Untersuchung 39

Farbstoffe und Farbstofflösungen 39

Methylenblau 40. Gentianaviolett 43. Fuchsin 44.

Herstellung gefärbter Ausstrichpräparate 45

Doppelt und mehrfach gefärbte Präparate 48

Das Gramsche Verfahren 49

Ausstrichpräparate 49. Schnittpräparate 51. Ersatz des Gramschen Verfahrens 52. Bakterien, bei denen JG — ist 53. Plasma- und Mastzellen 55.

Herstellung von Schnittpräparaten 56

Mikrotome 56. Sonstige Gebrauchsgegenstände und Chemikalien 57. Paraffinschnitte 58. Schnellhärtung und Schnelleinbettung 60. Gefrierverfahren mit Anethol 61. Einbettung in Zelloidin 62.

Die Züchtung 62

Erzielung von Keimfreiheit 63

Trockensterilisierungsschrank 64. Dampftopf 65. Dampftopf mit Ueberdruck 67. Autoklaven 68. Apparat für strömenden, gespannten Dampf 68. Diskontinuierliche Sterilisation 70. Reinigung gebrauchter Züchtungsgefäße. Chemikalien 71.

Die gebräuchlichsten Nährmittel. Nötige Bestandteile und Gebrauchsgegenstände 73

Fleisch 73. Fleischextrakt 74. Harn, Milch, Molken 75. Gelatine, Agar 76. Pepton 77. Albumose 78. Normallösungen. Indikatoren 78. Neutralisierung und Alkalisierung 79. Klärung mit Eiweiß. Filtration 83. Abfüllvorrichtungen 86. Sterilisierung, Aufbewahrung 87. Allgemeine Regeln 88.

Animalische Nährmittel 88

Fleischwasser 88

Nährbouillon 89

Nährgelatine 90

Nähragar 91

Sonstige Zusätze zu den Nährmitteln 93

Glyzerin, Zucker, ameisen-, indigschwefelsaures Natron, Blut 93. Hämoglobin, Hämatin, gekochter Rinderblutkuchen, Farbstoffe 94.

Digitized by Google

Seite

Gefärbte Nährböden für die Typhusdiagnose 95
Lackmuslaktoseagar, Fuchsinlaktoseagar 95. Malachitgrünagar nach Lentz und Tietz 96. Malachitgrünnährböden nach Loeffler 97.

Blutserum 98
Menschliches Blutserum 98. Blut von Schlachttieren 99. Keimfreimachung 100. Erstarrung. Traubenzuckerbouillon- oder Loefflersches Serum 102. Serumagar 103.

Ersatz des Blutserums und andere Nährmittel 103
Alkalialbuminatlösungen 103. Eier 105. Fleisch, Hirnbrei 106. Fleischscheiben 106. Reisscheiben, Milchreis 107.

Vegetabilische Nährmittel 107

Kartoffeln 107
Halbierte Kartoffeln. Kartoffelscheiben 108. Schräg halbierte Kartoffelzylinder und Glyzerinkartoffeln, Kartoffelbrei und feste Nährböden mit Kartoffelsaft 109.

Andere vegetabilische Nährmittel 110

Eiweißfreie Nährmittel 111

Anwendung der Nährmittel zur Trennung und Weiterzüchtung der Kleinwesen 111

Das Plattenverfahren 112
Glasplatten, Büchsen 112. Glas- und Blechbänke, Doppelschalen zu feuchten Kammern 113. Kulturschalen, Kulturflaschen 114. Nivellier- und Kühlapparate 115.

Anlegung von Gelatineplatten 115

Abänderungen beim Gelatineplattenverfahren 119
Schälchenverfahren 119. Rollplatten 120.

Zweck des Plattenverfahrens 120
Mengenbestimmung der Keime: Bestimmung der Keimzahl einer gewachsenen Kolonie 121. Bestimmung der Keimzahl in einer Flüssigkeit 121.
Gewinnung isolierter Kolonien; Gelatinescheiben 122.

Anlegung von Agarplatten 123
Abänderungen bei der Aussaat 125.

Gewinnung von Reinkulturen aus Plattenaussaaten 125

Weiterzüchtung und Anlegung von Sammlungen 126
Stich- und Strichkultur. Sammlung 127. Ordnung der Kulturen. Verfahren beim Umstechen 128. Vorschriften über das Arbeiten und den Verkehr mit Krankheitserregern 129. Dauernde Aufbewahrung 131. Konservierung mit Formalin. Luftdichter Abschluß 132. Konservierung einzelner Kolonien 133.

Züchtung bei höheren Wärmegraden; Brütschränke 134
Brütschränke für Gasheizung 135. Thermoregulatoren 137; für Temperaturen von 20 bis 24° 140; für elektrische Heizung, Regulatoren 141; für Petroleumheizung 142; Auswahl eines Apparates. Brützimmer 143. Beschaffung von Brütapparaten 144.

Züchtung unter Ausschluß von Sauerstoff 144

Züchtungsverfahren 145
Ausschluß der Luft 146. Mechanische Entfernung der Luft; Entfernung des Sauerstoffs 147. Ersatz der Luft durch Wasserstoffgas 149.

Der Tierversuch 155

Tiere 155
Käfige für Mäusezucht 156. Infizierte Tiere 157. Versuchsbehälter 158. Wägung der Tiere 159.

Die Infektion 159
Halter 160. Spritzen 161. Narkose 164.
Die verschiedenen Arten der Impfung; Perkutane, subkutane Impfung 164. Impfung in die vordere Augenkammer 165. Unter die

Digitized by Google

Seite

Hirnhaut 166; in die Lunge; in die Brusthöhle 167; in die Bauchhöhle; in die Blutbahn 168; in den Magen und Darm; in die Harnblase 169.

Untersuchung und Obduktion 169
Beobachtung nach der Infektion 170. Blutentnahmen. Tötung. Leichenöffnung 171. Die Mäusesektion 173. Herausnahme des Rückenmarks 176. Desinfektion der Hände 179.

II. Untersuchungen über die Form und Lebenseigenschaften der Bakterien.

Die mikroskopischen Merkmale 180

Betrachtung im lebenden Zustand 180

Betrachtung im gefärbten Präparat 181
Helle Säume und Höfe 181. Kapseln 182.

Der Bakterienleib und seine Einzelheiten 183
Chromatin, Entoplasma, Ektoplasma 183. Rindenschicht, Zentralkörper, Körnchen und Kügelchen 184. Vakuolen 185. Glykogen, Fett, Farbstoffe in Bakterien 186. Sporen 187. Sporenfärbung 189. Widerstandsfähigkeit der Sporen 190. Gewinnung asporogener Kulturen 194.

Bewegung der Bakterien 195
Eigen- und Molekularbewegung 195. Begeißelung 196.
Die Darstellung der Geißeln 197. Reinigung der Gläser 198. Anlegung des Ausstrichs 198. Beizung 200. Färbung 201.
Einzelne Verfahren zur Geißelfärbung: nach Loeffler 201, van Ermengem 202, Zettnow 203, Peppler 205.

Auffallende Wuchsformen 206
Verzweigungen 206. Involutions- und Degenerationsformen 207.

Die chemische Zusammensetzung der Bakterien 207

Das spezifische Gewicht der Bakterien 208

Die Merkmale bei der Züchtung 208
Wahl der Nährmittel. Reaktion 208. Plattenkultur, Beschreibung der Kolonien 209. Klatschpräparate 210. Reinkulturen in Reagenzgläsern 211. Schnitte durch Stichkulturen. Die Bouillonkultur 213. Kartoffeln 214. Milch 215.

Fortkommen in verschiedenen Wärmebreiten. Temperaturoptimum . . 215

Vermehrungsgeschwindigkeit. Generationsdauer 217

Kraftwechsel und Wärmebildung 219

Farbstoffbildung 219

Lichterzeugung 221

Reduzierende und ähnliche Eigenschaften 222
Der biologische Arsennachweis 224.

Bildung von flüchtigen Stoffen und Gasen; Atmung der Bakterien . . 225

Bildung von Säure und Alkali 228

Bildung von Indol 230

Enzyme 232
Eiweißspaltende Enzyme 232. Fett-, kohlehydratspaltende, invertierende Enzyme. Urease. Zymase 233. Bakteriolytische Enzyme 235.

Hämolysine 235

Alkaloide und ähnliche Stoffe 237

Leibessubstanzen der Bakterien 237
Proteine 238. Endotoxine 239. Aggressine 240.

Digitized by Google

Seite

Bakteriengifte in der Kulturflüssigkeit 241

Krankheitserregung und Virulenz 243
Dosierung des Infektionsstoffs 243. Verlust, künstliche Abschwächung der Virulenz 244. Abschwächung mit Chemikalien. Durchschickung durch Tiere. Steigerung der Virulenz 245. Erhaltung der Virulenz 246. Virulentmachung nicht pathogener Bakterien. Kollodiumsäckchen 247.

Wirkung der Mikroorganismen im Körper 247
Phagozytose; Opsonine; Bakteriotropine 248.

Immunität 249

Die Ehrlichsche Theorie 250
Antigene, Rezeptoren 251.
Unizeptoren. Toxine, Toxoide 251. Rezeptoren. Antitoxine. Agglutinine 252. Agglutinoide; Antiagglutinine. Präzipitine 254. Ambozeptoren. Immunkörper; Antiimmunkörper 254. Komplemente, Komplementoide, Antikomplemente 255.
Zytolysine, Bakteriolysine, Hämolysine, spermatozide Substanzen 256. Andere Zytolysine; Zytolysine gegen gelöste Eiweiße. Diagnostische Verwertung des Komplements zytolytischer Sera 257.

Natürliche Widerstandsfähigkeit 258

Erworbene Widerstandsfähigkeit, Immunisierung und Heilung 258
Aktive Immunisierung. Schutzimpfung gegen Cholera 259, gegen Typhus, Pest 260.
Passive Immunisierung 261.
Gemischte Immunisierung 262.
Antitoxische Sera. Diphtherieantitoxin 262; Tetanusantitoxin 263.
Bakteriolytische oder bakterizide Sera; ihre Gewinnung und Verwendung. Choleraserum 264. Typhusserum 266.
Agglutinierende Sera 267. Bestimmung der Grenzwerte. Gewinnung und Verwendung. Choleraserum 270. Typhusserum 272. Andere Verfahren 274. Bemerkungen zu den Reaktionen 277. Agglutination bei Pest 277.
Präzipitation 278.

Desinfektion 280

Desinfektionsversuche; Seidenfäden, Granaten 281

Austrocknung 284

Hitze, Prüfung der Apparate 285

Kälte 292

Licht 293

Chemikalien 294

III. Bakteriologische Diagnostik.

Einteilung der hier in Betracht kommenden pflanzlichen Kleinwesen 303

Bakterien 306
Mikrokokken 306. Bazillen 308. Spirillen 310. Spirochäten 311.

Trichomyzeten 311
Streptothrix 311. Leptothrix. Thiothrix 312. Crenothrix, Cladothrix 313.

Blastomyzeten 313
Saccharomyces 313. Oidium 314.

Hyphomyzeten 315
Achorion Schoenleinii 315. Trichophytiepilze 316. Schimmelpilze 317. Mucor. Aspergillus 318. Penicillium 319.

Vorkommen und Nachweis von Kleinwesen in- und außerhalb des Körpers nebst Beschreibung der häufigeren Arten 319

Nachweis von Krankheitserregern in der Leiche 319

Digitized by Google

Seite

Nachweis von Kleinwesen, vornehmlich von Krankheitserregern in einzelnen Körperteilen und ihren Ausscheidungsstoffen 322

Haut 322
Färbung 322. Züchtung der Hautpilze 324.
Lepra 325. Tuberkulose der Haut 326. Rotzgeschwüre 327. Rotzbazillen 328. Diphtheritische Hautgeschwüre 330. Hospitalbrand. Scharlach. Erysipel 331. Streptokokken 332. Inhalt von Pocken- und Impfpusteln 334.

Zellgewebsentzündungen und Ausgänge 335
Staphylococcus pyogenes aureus 336. Micrococcus tetragenus 339. Bac. pyocyaneus. Proteusarten 340. Bac. fusiformis. Spirillen 341. Anaerobier. Bubonenpest, Pestbazillen 342.

Furunkel und Karbunkel; Pustula maligna, Bac. anthracis 343

Gasgangrän 347

Wundstarrkrampf; Bac. tetani 348

Eiter- und Flüssigkeitsansammlungen in Körperhöhlen 350
Gehirn und Rückenmark 350. Meningitis cerebrospinalis 351. Brusthöhle 353. Bauchhöhle 355. Gelenke, Knochen 356.
Aktinomyces, Madurahand und -fuß 357.

Ohr 358
Streptococcus mucosus 359.

Auge 360
Xerosebazillen 360. Koch-Weeksscher Bacillus 361. Diplobacillus Morax-Axenfeld. Streptotricheen 362.

Mund 363
Zähne 363. Zungenbeläge. Soor. Stomatitis. Maul- und Klauenseuche 365.

Atmungsorgane. Nase 366
Schnupfen 366. Ozäna. Rhinosklerom. Lepra 367.

Mandeln und Rachen 367
Diphtheriediagnose 367. Diphtheriebazillen 370. Scharlachdiphtherie 372. Plaut-Vincentsche Angina. Anginabazillus Bonhoffs 373. Andere Erreger 374. Pharyngomykosis leptothricia 375.

Lungen 375
Pneumonien und Bronchitiden 375. Diplococcus lanceolatus 376. Bacillus pneumoniae 378.
Micrococcus catarrhalis 379. Bac. influenzae 380. Keuchhusten 383.

Tuberkulose 383
Tuberkelbazillen 383. Perlsuchtbazillen 385. Hühnertuberkulose 387. Andere säure- und alkoholfeste Bazillen 388. Smegmabazillen. Gruppe der Butter-, Milch-, Gras- und Mistbazillen 390.
Der Nachweis von Tb. im Auswurf. Vorbereitung des Auswurfs 391. Anfertigung der Ausstriche. Färbung 392. Entfärbung und Nachfärbung 393. Zusammenfassung 394. Mengenbestimmung der Tb. 396. Homogenisierung mit Chemikalien und Sedimentierung 398. Anreicherungsverfahren und Züchtung 399. Tierversuch. Nachweis der Tb. in Schnitten 400. Nachweis von elastischen Fasern. Erkennung von Begleitkrankheiten 401.

Verdauungsorgane, Magen- und Darminhalt 402
Die langen Bazillen des Magens 402. Bakterien der Koligruppe 405.

Typhöse Erkrankungen 406
Typhusbazillen 406. Paratyphus 410. Paratyphusbazillen. Die bakteriologische Typhusdiagnose 411. Zur Untersuchung geeignetes Material; Gang der Untersuchung 412. Nährböden 414. Besäung und Untersuchung der Lackmus- und Fuchsinlaktoseagarplatten mit Vorkultur 416. Besäung und Untersuchung der Loefflerschen Malachitgrünnährböden 420.

Digitized by Google

Seite

Ruhrerkrankungen 420
Die Bakterienruhr 421. Die Amöbenenteritis 422.

Erkrankungen durch Fleisch kranker Tiere und durch verdorbene Nahrungsmittel 424
Fleischvergiftungen 424. Bac. enteritidis 425. Bac. psittacosis. Bac. enteritidis mucosus 426. Proteusarten. Bac. peptonificans 427. Wurstvergiftung; Bac. botulinus 428.
Untersuchungsverfahren bei Verdacht auf Fleisch- oder Wurstvergiftung 429.

Cholera asiatica 431
Vibrio cholerae 431. Choleraähnliche Vibrionen 434. Die bakteriologische Choleradiagnose. Anweisung zur Entnahme und Versendung choleraverdächtiger Untersuchungsobjekte 435.

Andere Darmerkrankungen durch Bakterien 442
Cholera nostras; Darmkatarrhe; Bac. erysipelatos suum 442. Tuberkulose des Darms; Milzbrand des Darms; Darmpest 443.

Harn- und Geschlechtsorgane 443
Bacterium ureae 444. Bakteriurie; Cystitis 445. Bac. proteus fluorescens 446. Tuberkulose der Harnorgane 447.

Geschlechtskrankheiten 448
Gonorrhöe; Micrococcus gonorrhoeae 448. Die Tripperdiagnose 452. Pseudogonorrhoische Urethritis. Ulcus molle 453. Syphilis 454. Spirochaete pallida 455.

Blut 458
Rückfallfieber; Spirochaete Obermeieri 458.
Untersuchung von Blut im allgemeinen 460.
Tierische Blutparasiten. Die Malariakrankheiten des Menschen 462.

Milch 465
Keimzahlbestimmung 466. Vorkommende Arten. Milchsäurebakterien 467. Milchstreptokokken. Andere Milchbakterien 468. Buttersäurebazillen 469. Kaseinpeptonifizierende Bazillen. Krankheitserreger. Streptokokken 469. Tuberkelbazillen 470. Andere Krankheitserreger 471.

Butter und Käse 471
Butter 471. Keimzahlbestimmungen. Tuberkelbazillen 472. Käse. Schweinerotlaufbazillen 473.

Wasser 473
Die mikroskopische Untersuchung 473.
Die Mengenbestimmung der züchtbaren Mikroorganismen: Entnahme 475. Ausrüstung 477. Wahl des Nährbodens 479. Aussaat 481. Züchtung 482. Abstiftung. Unterbrechung der Züchtung 483. Zählung 484.
Die Artbestimmung von Keimen im Wasser. Nachweis von Kolibakterien 487; von Anaerobiern; von Spirillen 490; von Choleravibrionen 491; von Typhusbazillen 492; Anreicherung und Vorkultur 493; Einengung und elektive Züchtung 494.

Luft 496
Artbestimmung. Tuberkelbazillen. Mengenbestimmung 496.

Boden 498
Artbestimmung; Baz. des Tetanus, malignen Oedems usw. 498. Mengenbestimmung 499.

Untersuchung von Haaren und Borsten auf Milzbrandkeime 502

Digitized by Google

IV. Anhang.

Seite

1. Anleitung zur Einrichtung bakteriologischer Arbeitstätten . . . 506

Kochvorrichtungen, Wasserversorgung und Abwasserleitungen 509

Einige Regeln für bakteriologische Arbeiten 512

Allgemeines. Schutzkleidung. Mikroskopische Präparate 512. Infizierte Tiere. Kulturen. Desinfektion 513. Sauberkeit und Ordnung 514.

Zusammensetzung und Wertverzeichnis der für bakteriologische Arbeitstätten I., II. und III. Ordnung erforderlichen Einrichtungsgegenstände und Chemikalien 515

Einrichtungsgegenstände 515. Chemikalien 524.

2. Erläuterungen zu den Mikrophotogrammen nebst Winken für mikrophotographische Aufnahmen 528

Mikroskop und Kamera. Lichtfilter 528. Lichtquellen. Platten 529. Entwickler 530. Reproduktion. Tabelle zu den Mikrophotogrammen 531.

Autorenregister 532

Sachregister 541

Mikrophotographische Tafeln nebst Erläuterungen 551

Digitized by Google

Erklärung der Abkürzungen,

die nicht ohne weiteres verständlich sind.

AfH. = Archiv für Hygiene.
AP. = Annales de l'Institut Pasteur.
BkW. = Berliner klinische Wochenschrift.
C. = Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. Erste Abteilung: Mediz.-hygien. Bakteriologie und tier. Parasitenkunde. Vom 31. Bande ab sind die Referate (= r.) in eigenen Bänden erschienen.
C. II. = Centralblatt für Bakteriologie. Zweite Abteilung: Allgemeine landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.
DmW. = Deutsche medizinische Wochenschrift.
L. = Literaturbeilage; Ver. = Vereinsbeilage.
FdM. = Fortschritte der Medizin.
Hdb. d. path. Mikr. = Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von W. Kolle und A. Wassermann; Jena bei G. Fischer.
HR. = Hygienische Rundschau.
Jahrb. = Jahrbuch.
Jahrber. = Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen; herausgegeben von P. v. Baumgarten und F. Tangl; Leipzig bei S. Hirzel.
KGA. Arb. = Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte.
KGA. Mittlg. = Mitteilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte.
KGA. Tub.-Arb. = Tuberkulose-Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte.
KGA. Veröff. = Veröffentlichungen des Kaiserlichen Gesundheitsamtes.
MmW. = Münchener medizinische Wochenschrift.
r. = referiert (Referat).
Vjrschr. f. öff. Ges.pfl. = Vierteljahrsschrift für öffentliche Gesundheitspflege.
WkW. = Wiener klinische Wochenschrift.
ZfH. = Zeitschrift für Hygiene.
Z. f. wiss. Mikr. = Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie.

Die erste hinter der Abkürzung stehende Zahl bedeutet bei den regelmäßig (wöchentlich usw.) erscheinenden, mit dem Jahre abschließenden Zeitschriften die Jahreszahl, bei den übrigen die Bandnummer; die zweite Zahl gibt in allen Fällen die Seite an.

Nachträge.

Zu Seite 36, Zeile 9 v. u.: Die Einstopfung mit dem Holzstab muß stets unter Wasser erfolgen. Der Holzkeil hat die fertig gestopfte Asbestmasse lediglich zusammenzudrücken.
Zu Seite 42, Abschnitt „Methylenazur": Dimethylthionin ist nach P. Ehrlich der reine Farbstoff für Methylenazur.
Seite 154, Zeile 22 v. o. muß es heißen: R. Graßberger (AfH. 37. 54).
„ 183, „ 33 v. o. „ „ „ abspülen, färben, trocknen, einbetten.
„ 307, „ 8 v. u. „ „ „ Kapselmikrokokken.
Die Anmerkungen von Seite 415 gehören auch zu Seite 97, Zeile 15 v. o. und zu Seite 98, Zeile 3 v. o.

Digitized by Google

I. Die Untersuchungen im allgemeinen und ihre Hilfsmittel.

Die mikroskopische Untersuchung.

Das Mikroskop.

Der mechanische Teil. Das feste und schwere Stativ der neueren Instrumente besitzt einen meist hufeisenförmigen Sockel und mit ihm durch ein Scharniergelenk verbunden den Objekttisch mit dem Tubusträger. Die Umlegbarkeit des Rohrteils ist von wesentlicher Wichtigkeit für Mikrophotographie und Projektion, wobei sie bis zum rechten Winkel gemacht wird. Sie nützt ferner beim gewöhnlichen Mikroskopieren, wenn der Tisch zu hoch oder der Sitz zu niedrig ist, weil man das Okular bequemer ans Auge bringen kann, wie es in der Fig. 1 angezeigt ist.

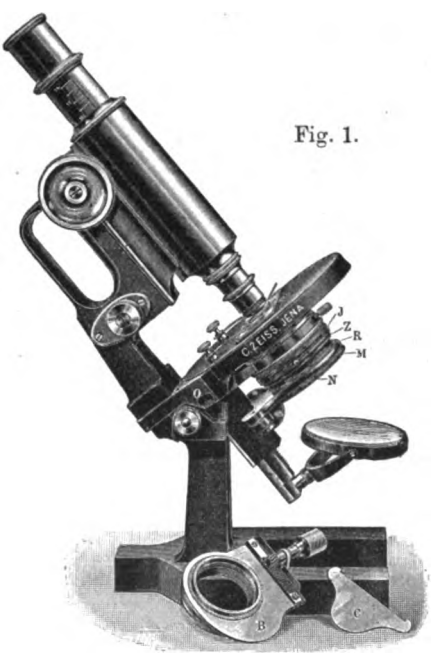


Fig. 1.

Dieses seit 1903 von der Firma C. Zeiß in Jena eingeführte Stativ III unterscheidet sich von den bis dahin üblichen und heute noch viel gebrauchten im allgemeinen durch die Möglichkeit, daß man nicht bloß den optischen, sondern auch den mechanischen Teil durch Nachbeziehung einzelner Stücke mit der Zeit nach Belieben vervollständigen kann, und im besonderen durch die Anbringung der von M. Berger im Jahre 1898 angegebenen Mikrometerbewegung, die feiner und sicherer als die sonst übliche arbeitet, endlich durch die Befestigung des Beleuchtungsspiegels, der unverrückbar an dem Stativ und zwar an dem sogenannten Kondensorschwanze angebracht ist, während er früher bei der Verschraubung des Gestells, an dem der Kondensor und Diaphragmenträger sitzt, mitbewegt wurde.

Die Einrichtung der M. Bergerschen Mikrometerbewegung erforderte eine winklige Fortsetzung des Tubusträgers nach hinten, die dazu

Digitized by Google

ausgenutzt wurde, um einerseits die Ausladung am Objekttisch zu vergrößern, so daß große Objektträger und Platten allseitig durchmustert werden können, anderseits um eine Handhabe anzubringen, an der das ganze Instrument ohne Belastung und Belästigung des Mikrometertriebes angefaßt werden kann.

Der Objekttisch eines Mikroskops für bakteriologische Zwecke soll so groß sein, daß man eine Platte oder Schale von 9 bis 10 cm Durchmesser bis über ihren Mittelpunkt hinaus durchzumustern vermag; er muß also mindestens etwa 100 mm Tiefe haben. In seiner Mitte befindet sich ein kreisförmiger Ausschnitt für die Aufnahme der Linse des Beleuchtungsapparates an Stelle der einfachen Blenden, die bei histologischen Untersuchungen gebraucht werden. An vollkommeneren Instrumenten ist der scheibenförmige Objekttisch drehbar und besitzt zwei Stellschrauben, die den Vorteil gewähren, einen am Rande des Gesichtsfelds gesehenen Gegenstand zur genaueren Betrachtung in die Mitte befördern zu können, ohne daß man durch eine zufällige unvorsichtige Berührung des Objekttisches die Stelle aus dem Beobachtungskreise verliert.

Eine weitere Vervollkommnung ist der Kreuztisch, bei dem der in einem Rahmen gehaltene Objektträger in der Ebene des Tisches nach zwei zueinander senkrechten Richtungen bewegt werden kann; er ist für die rasche Wiederauffindung bestimmter Stellen im Präparat kaum zu entbehren, ohne eine solche Einrichtung braucht man unter Umständen Stunden dazu.

Der grobe Trieb bezweckt die leichte, vorsichtige Annäherung des Tubus mit dem Objektiv ans Präparat. Der Zahnradtrieb muß vollkommen gleichmäßig arbeiten, er darf weder zu streng noch zu leicht gehen.

Die Mikrometerschraube dient zur feineren Einstellung und muß sie aufs genaueste ermöglichen. Am Kopfe der Schrauben älteren Systems pflegt eine Gradteilung aufgetragen zu sein; sie kann zu Dickenmessungen von Objekten gebraucht werden, da ein Teilstrich 0,005 mm entspricht; außerdem leistet sie bei der Einstellung ungefärbter Präparate dadurch gute Dienste, daß man bei Verwendung von Deckgläsern bestimmter Dicke einen Anhaltspunkt hat, um wieviel Teilstriche das bis zur Berührung ans Präparat herangebrachte Immersionsobjektiv gehoben werden muß, bis das Bild annähernd scharf erscheint (vergl. S. 10). Auch bei der Mikrometerbewegung nach Berger ist eine solche Teilung vorgesehen; ein Intervall der Teilung entspricht hier einer Verschiebung des Tubus um 0,002 mm.

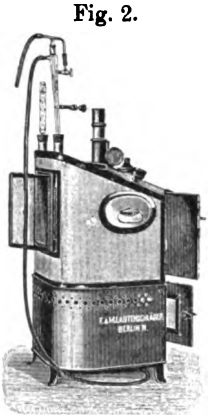
Der Revolverobjektivträger soll möglichst sicher schließen. Er werde für drei Systeme gewählt. Die Zentrierung der Objektive wird vom Fabrikanten gemacht; die Auswechslung mit ihm geht rascher als mit dem Schlittenobjektivwechsler, bei dem jeder selbst die genaue Zentrierung vornehmen kann. Man braucht ein Tubusschlittenstück und für jedes System ein eigenes Objektivschlittenstück. An den zwei mit einem Uhrschlüssel verstellbaren Schrauben läßt sich die Bewegung nach den beiden in Betracht kommenden Richtungen besorgen, so daß ein bestimmter bei dem ersten System in der Mitte des Gesichtsfelds liegender Punkt auch für jedes andere System genau in die Mitte gebracht werden kann.

Digitized by Google

Der Tubus entspricht in der Fig. 1 der üblichen Weite. Für Mikrophotographie und Projektion wird er beträchtlich weiter genommen, damit störende Reflexe abgehalten und gewisse schwache Systeme (Mikroplanare u. dergl.) in den Tubus eingesetzt werden können. Seine Länge läßt sich durch Verschiebung verändern. In der Fig. 1 ist der Auszug auf 160 mm Tubuslänge gebracht, weil die Zeißschen Objektive auf diese Tubuslänge „justiert" sind. Den Tubus weiter auszuziehen in der Absicht, eine stärkere Vergrößerung zu erzielen, hat keinen Zweck, weil dadurch das Bild nicht verbessert, bei stärkeren Objektiven geradezu geschädigt, unschärfer wird. Die Möglichkeit der Längenverstellung ist bloß aus dem Grunde gewährt, damit bei Einschaltung von Zwischenstücken, wie Revolver- oder Schlittenwechsler, die erforderliche Korrektur gemacht werden kann; bei einem 10 mm langen Revolver muß der Tubus demnach bis zur Marke 150, bei einem 20 mm langen Schlittenobjektivwechsler auf 140 mm eingeschoben werden. Andere Fabriken haben ihre Systeme auf andere Tubuslängen eingestellt, so z. B. E. Leitz auf 170 mm. Die Einschiebung muß dann bei Einschaltung eines Revolvers von 10 mm Länge auf 160 mm geschehen. Die Maße gelten von der Ansatzfläche des Objektivgewindes bis zum oberen Rande des Tubus.

Wärmevorrichtungen am Mikroskop zur Beobachtung des Entwicklungsgangs lebender Kleinwesen bei höherer Temperatur, z. B. bei Körperwärme, hat man vielfach am Objekttisch angebracht und die Erwärmung entweder durch eine Flamme und die von ihr fortgeleitete Wärme oder durch Elektrizität hervorgerufen. Weitaus zuverlässiger ist es, das ganze Mikroskop in einen kleinen doppelwandigen Brütschrank zu setzen, wie er in Fig. 2 dargestellt ist. Die doppelte Wand ist mit Wasser gefüllt, für dessen gleichmäßige Temperaturerhaltung durch ein Thermometer und einen Thermoregulator gesorgt ist; die kleine Flamme eines Mikrobrenners befindet sich im unteren Teil. Der Kasten selbst ist aus Kupfer, seine hintere Wand aufklappbar, die vordere hat ein großes Fenster, jede seitliche eine verschließbare Oeffnung zur Einführung der Hände. Das Dach besteht aus zwei in der Mitte zusammenstoßenden Teilen. Hier sind mit Filzfütterung versehene Oeffnungen angebracht, durch die der obere Teil des Tubus und des Stativs gehen, so daß sich der grobe Trieb und die Mikrometerschraube außerhalb befinden.

Fig. 2.



Mikroskope für besondere Zwecke sind außer dem Stativ für Mikrophotographie das binokulare Stativ, bei dem stereoskopisches Sehen durch Kombination zweier vollständiger und zwar bildaufrichtender Mikroskope vermittelt wird; sie werden für 8- bis 72fache Vergrößerung angefertigt (Näheres im Katalog von C. Zeiß).

Einfache Präpariermikroskope, bei denen man nicht wie unter einer Lupe oder bei einem gewöhnlichen Mikroskop unter dem Objektiv im umgekehrten Bilde hantieren muß, werden mit Prismen im Tubus hergestellt (s. z. B. R. Pfeiffer, C. 27. 535).

Digitized by Google

Ein Reisemikroskop wird zerlegbar in kompendiöser Verpackung in einem Leder- oder Segeltuchkoffer für Expeditionen u. dergl. geliefert.

Der optische Teil. Wir brauchen zweierlei Objektivlinsen: Trockensysteme und Tauch- oder Immersionssysteme.

Von Trockensystemen, jedem Arzt aus histologischen Kursen bekannt, bedürfen wir für gewöhnlich zwei: ein schwaches, das mit mittelstarken Okularen eine etwa 20- bis 50fache Vergrößerung liefert, soll einen Ueberblick über die Präparate geben, die nachher mit stärkeren Systemen durchmustert werden; es ist unentbehrlich zur Untersuchung der auf Gelatine- oder Agarplatten gewachsenen Ansiedlungen, die vielfach schon bei dieser Vergrößerung unterscheidende Merkmale erkennen lassen, es wird viel zur Zählung der aus einer bestimmten Menge Aussaatflüssigkeit gewachsenen Kolonien gebraucht und kann auch zur Erkennung der Niederschläge bei Agglutinations- und Präzipitationsversuchen dienen.

Während zum Zählen der Kolonien mitunter ein noch schwächeres Trockensystem erwünscht ist, wird man zur Erkennung der spezifischen Niederschläge das nächst stärkere System gerne heranziehen. Doch kommt man so ziemlich für alle Fälle mit dem eingangs gedachten System, das etwa Zeiß a_3 oder Leitz 2 entspricht, aus. Zeiß AA und Leitz 3 sind für die Auszählung von Platten und für die Absteckung der Kolonien unterm Mikroskop weniger geeignet, da ihr „Fokalabstand" bereits ziemlich gering ist. Die schwache Linse soll vielmehr einen genügend großen Abstand vom Objekt haben, damit man unter ihr mit der Platinnadel hantieren kann.

Das stärkere Trockensystem wird hauptsächlich zum Studium histologischer Einzelheiten, zur Untersuchung von Bakterienverbänden und Agglutinationserscheinungen im hängenden Tropfen, zur Bestimmung von Schimmelpilzen u. dergl. m. benutzt. Es soll mit nicht zu starken Okularen ein scharfes und tadelloses Bild zwischen 200 und 400 linear liefern. Von den Zeißschen Systemen wird als solches meistens DD gewählt. In seiner Eigenvergrößerung steht es zwischen den Leitzschen Systemen 5 und 6.

Für die Auffindung und das Studium einzelner Bakterien reicht eine derartige Linse und selbst ein noch stärkeres Trockensystem nicht aus. Wenn man mit solchen Trockensystemen auch Vergrößerungen erzielen kann, die denen der Oelimmersion gleichkommen, so erreicht man mit ihnen doch nicht die nötige feine Definierung im Bilde, denn ihr „Auflösungsvermögen" geht über einen gewissen Grad nicht hinaus, weil die Lichtstrahlen, ehe sie vom Objekt zum Objektiv gelangen, die Luft zu durchlaufen haben, die ein anderes Brechungsvermögen als das Glas hat; der Brechungsindex der Luft ist = 1, der des Glases = 1,5. Die dadurch bedingte Störung macht sich mit steigender Linsenstärke immer mehr geltend und kann schließlich nur durch Ausschaltung der Luft und Ersatz durch ein Mittel beseitigt werden, dessen Brechungsindex dem des Glases möglichst gleichkommt. Nur eine beschränkte Anzahl von Flüssigkeiten ist dazu geeignet; erst nahm man Wasser, dessen Brechungsindex 1,33 ist, nachher gewisse Oelsorten mit dem Brechungsindex von 1,52, die, zwischen Objekt und Objektiv eingebracht,

Digitized by Google

den Lichtstrahlen ein gleichmäßiges, „homogenes“ Medium für den Durchgang bieten; unter allen hat sich das angemessen eingedickte Zedernöl als am brauchbarsten bewährt.

Die Verschiedenheiten der Wirkung auf den Durchtritt der Lichtstrahlen durch Glas einerseits, Luft, Wasser, Zedernöl anderseits lassen sich vor Augen führen, wenn man drei Fläschchen nimmt, in jedes einen Glasstab stellt, dann in das eine Zedernöl, ins andere Wasser füllt und das dritte leer läßt. Im Oel ist der Stab beinahe nicht mehr zu erkennen.

Zur Erhöhung der numerischen Apertur (s. unten) hat man als Mittel mit noch größerem, dem des Glases nahestehendem Brechungsvermögen (1,66) das Monobromnaphthalin genommen. Dazu ist von E. Abbe ein System berechnet und von Zeiß hergestellt worden, das die Verwendung von Objekt- und Deckgläsern aus besonderem (Flint-)Glas, die Einbettung der Präparate anstatt in Kanadabalsam in Mittel vom Brechungsindex 1,6 erfordert und dadurch in der praktischen Anwendbarkeit beschränkt ist.

Die Tauch- oder Immersionssysteme wurden, nachdem Amici (1850) und Stephenson die Methode erfunden, von Abbe berechnet, von C. Zeiß hergestellt und von R. Koch für die Bakteriologie verwertet. Nur die Oelimmersion ist als annähernd vollkommen anzusehen, während die Wasserimmersion als mit einem nicht völlig homogenen Medium arbeitend an Leistungsfähigkeit zurücksteht, die sich noch verringert, wenn den Linsen eine Deckglasdicke zugemutet wird, für die sie nicht justiert sind; doch läßt sich dieser Mißlichkeit durch Anbringung einer Korrektionsschraube begegnen, die bei der Oelimmersion überflüssig ist.

Die Vergrößerung, die sich mit den gebräuchlichen Mikroskopen erzielen läßt, begrenzt sich bei 1000 bis 1500 linear. Zu ihrer Erreichung sind bereits die stärkeren Okulare und bei der Mikrophotographie längere Balgauszüge erforderlich. Die Eigenvergrößerung der Objektive ohne Okulare ist im höchsten Falle etwa 170fach (bei Oelimmersion $^1/_{16}$ Zoll = 1,5 mm Brennweite). Die bei den meisten Arbeiten gebrauchte Oelimmersion $^1/_{12}$ engl. Zoll = 2 mm äquivalenter Brennweite hat eine Eigenvergrößerung von etwa 125- bis 130fach und liefert mit mittelstarken Okularen ein Bild in etwa 700facher Vergrößerung.

Die gewöhnlichen achromatischen Linsen haben neben ihren Vorzügen immer noch gewisse Fehler, von deren Vorhandensein man sich leicht durch Anwendung eines starken Okulars überzeugen kann; dieses vergrößert auch die Fehler entsprechend: das Bild verliert an Schärfe und Helligkeit. Besonders die stärkeren achromatischen Objektive können deshalb nur mit schwachen Okularen ohne Nachteil kombiniert werden.

Die sogenannten Apochromaten vertragen die Anwendung von stärkeren Okularen besser. Den Forschungen eines Abbe und der Leistungsfähigkeit der Zeißschen Werkstätte in Jena verdanken wir den neuen Glasfluß; Borat-, Phosphat- und Barytgläser in Verbindung mit Fluorit sind es, aus denen die Linsensysteme mit hervorragender Schärfe, Farbenreinheit und Helligkeit des Bildes geschaffen werden. Im Gegensatz zu den achromatischen Systemen ist bei ihnen die richtige Farbenkorrektion für alle Zonen in gleicher Weise hergestellt. Ein gewisser Fehler für die außerachsialen Teile des Gesichtsfeldes bleibt allerdings auch hier bestehen; dieser wird aber durch die zu diesen

Digitized by Google

Systemen konstruierten Okulare, die „Kompensationsokulare", aufgewogen*).

Die von C. Zeiß eingeführte Bezeichnung der Apochromate mit ihren Aequivalentbrennweiten in Millimetern ist von anderen Fabrikanten ziemlich allgemein angenommen worden, es gibt Apochromate von 70, 35, 16, 8, 4, 3; 3, 2 und 1,5 mm; die letzten drei sind Oelimmersionen.

Im Gegensatz dazu werden wenigstens die gewöhnlichen Oelimmersionen und die selten noch verlangten Wasserimmersionen aus nicht apochromatischen Gläsern wie früher mit der äquivalenten Brennweite in englischen Zoll bezeichnet, also $^1/_{10}$, $^1/_{12}$, $^1/_{16}$.

In der Bezeichnung der achromatischen Trockensysteme weichen die einzelnen Fabriken voneinander ab: die einen, wie C. Zeiß, nehmen Buchstaben; die anderen, wie E. Leitz, arabische, wieder andere, wie W. & H. Seibert, römische Zahlen.

Den Mikroskopiker interessiert als das Wichtigste die numerische Apertur (Abbe), deren Wert auf den Linsenfassungen eingraviert oder in den Preisverzeichnissen der Firmen aufzufinden ist. Je höher die numerische Apertur, desto größer die Leistungsfähigkeit des Systems.

Der Wert für die numerische Apertur wird erhalten, wenn man den Sinus des halben Oeffnungswinkels eines Systems multipliziert mit dem Brechungsindex der zwischen Objekt und Objektiv befindlichen Schicht (Luft, Wasser, Oel, Monobromnaphthalin).

Der Oeffnungswinkel wird von den äußersten Strahlen gebildet, die, von demselben Punkte des Objekts ausgehend, eben noch ins Auge des Beobachters gelangen.

Das Auflösungsvermögen eines Systems, das ist die kleinste von ihm getrennt wiedergegebene Entfernung zwischen Strukturelementen in Millimetern ausgedrückt, ist bei zentraler enger Beleuchtung gleich der Wellenlänge des angewendeten Lichtes (gemessen in Millimetern) dividiert durch die Apertur (Czapski).

Der Abbesche Beleuchtungsapparat besteht aus einem Kondensorsystem, das die vom Spiegel zurückgeworfenen Lichtstrahlen derart sammelt, daß sie an der Stelle des Objekts vereinigt werden. Dieser Punkt liegt etwa 2 mm über dem Objekttisch. Ist der Objektträger aus dünnem Glase, so muß die Beleuchtungslinse etwas tiefer gestellt werden, wenn man die ganze Lichtfülle ausnutzen will. Außerdem gehört dazu die Zahn- und Triebbewegung für die Verschiebung in der Richtung der Mikroskopachse, die Schiebehülse zum Einstecken der Zylinderblenden und der Kondensoren; endlich der Diaphragmenträger, auf den eine Irisblende aufgesetzt wird, oder in den eine sternförmige Blende zur Erzielung von Dunkelfeldbeleuchtung oder ein mattes oder blaues Glas für die Mikroskopierung bei künstlichem Lichte eingelegt werden kann; er ist mit einer Schraube versehen, bei deren Drehung schiefe Beleuchtung erzielt wird.

Die Dunkelfeldbeleuchtung kommt für bakteriologische Untersuchungen weniger in Betracht. Unter Verwendung intensivsten Lichts ist sie nach Ein-

*) Verwiesen sei auf: C. Zeiß, Jena, Mikroskope und mikroskopische Hilfsapparate. E. Leitz, Wetzlar, Mikroskope, Mikrotome und Nebenapparate. Derselbe, Anleitung zum Gebrauch der Mikroskope.

Digitized by Google

führung des Ultramikroskops wieder mehr in Aufnahme gekommen und zwar in der Weise, daß in das Objektiv selbst eine Stempelblende eingesetzt und das Licht einer Bogenlampe von nicht unter 8 Ampère mittels eines eigenen Kondensors mit Blende einer besonders hergestellten Kammer zugeführt wird, in der die zu untersuchende Flüssigkeit in dünner Schicht ausgebreitet ist (s. E. Leitz, Die Dunkelfeldbeleuchtung, Beschreibung und Handhabung).

Bei dem Instrument der Fig. 1 ist der Abbesche Beleuchtungsapparat noch unvollständig, da ihm der einsetzbare Diaphragmenträger B noch fehlt. Es enthält dafür eine Irisblende J, die mittels des Zwischenrings Z und der Mutter M in der Platte R befestigt ist. Auch hier kann schiefe Beleuchtung, wenn auch nur in einer bestimmten Richtung gegeben werden, da die Platte, auf der die Irisblende sitzt, seitlich aus der Achse herausbewegt werden kann. Zur Vervollständigung des Apparates wird die Mutter M abgeschraubt; sie hat an ihrem Ende zwei Nuten N, in die ein Schlüssel C eingesetzt werden kann. Danach wird an die Stelle des Zwischenrings Z der Diaphragmenträger B eingesetzt und letzterer mit der Irisblende versehen, nachdem sie von dem Zwischenring abgenommen ist (nach der Beschreibung von C. Zeiß).

Der Kondensor des Abbeschen Beleuchtungsapparates wird in verschiedener Ausführung und mit verschiedener numerischer Apertur geliefert bis zu 1,40 num. Ap.; doch ist letztere für unsere Zwecke nicht unbedingt erforderlich; auch die schiefe Beleuchtung, die das Auflösungsvermögen noch etwas zu erhöhen gestattet und die bei Bakterienansiedlungen reichere Schattierungen in die Erscheinung treten läßt, brauchen wir nur wenig.

Bei der Benutzung schwacher Trockensysteme kann die vom Kondensor gelieferte Lichtmenge zu groß werden; dann nimmt man ihn heraus und schiebt an seine Stelle gewöhnliche Diaphragmen, die jedem Instrument beigegeben werden, ein. Bei einigermaßen vollkommenen Mikroskopen ist die Herausnahme durch Tieferschraubung und seitliche Ausdrehung, bei noch größeren durch Ausklappvorrichtung ermöglicht; in diesem Falle ist im Loche des Objekttisches eine kleine Irisblende vorhanden.

Zumeist wird man bei Untersuchungen der Platten- und Schälchenkulturen eine Entfernung der Kondensorlinse nicht nötig haben, es genügt, die Blende entsprechend eng zu machen und den Hohlspiegel zur Beleuchtung zu verwenden, wodurch gleichzeitig vermieden wird, daß das Spiegelbild des Fensterkreuzes, von Blumen, fliegenden Vögeln u. dergl. im Gesichtsfeld erscheint. Man wird dann kaum veranlaßt sein, den Kondensor auch nur tiefer zu stellen.

Selbst für das starke Trockensystem ist die Beleuchtung mit dem Abbeschen Kondensor noch zu stark; man muß eine geeignete Abblendung sogar bei gefärbten Präparaten eintreten lassen.

Bei der Betrachtung ungefärbter Objekte mit der Oelimmersion ist das Licht aus dem offenen Kondensor ebenfalls noch zu grell. Denn, wie R. Koch darlegte, setzt sich das mikroskopische Bild des nicht gefärbten Objekts infolge Diffraktion der durchgehenden Lichtstrahlen aus Linien und Schatten zusammen. Soll also die Struktur zur Wahrnehmung gelangen, so muß eine Blende eingeschaltet werden. Die geeignetste Abblendung ist die auf $^1/_3$ bis $^1/_2$ der Oeffnung, die

Digitized by Google

man sieht, wenn man nach Abnahme des Okulars in den Tubus blickt. Das gilt für alle, auch für die schwächeren Systeme.

Im Gegensatz zu dem auf diese Weise gewonnenen Strukturbild spricht man mit R. Koch von einem Farbenbild, wenn gefärbte Bakterien mit Hilfe des vollen Lichtkegels des Kondensors besichtigt werden. Die Lichtflut, die bei richtiger Wahl und Stellung des Spiegels und des Linsensystems durch den „offenen Kondensor" über das Präparat sich ergießt, löscht Linien und Schatten in der Umgebung der gefärbten Teile ziemlich vollständig, beseitigt die Diffraktion, hebt die Unterschiede zwischen Hell und Dunkel auf und läßt die gefärbten Bakterien klar und scharf hervortreten. Zu dem Ende muß die volle Apertur des Kondensors genommen werden, es muß jede Abblendung vermieden oder beseitigt und zur Auffangung des Lichtes der Planspiegel genommen werden, denn nur wenn die Strahlen vom Spiegel parallel nach der Sammellinse hingeführt werden, ist die Vereinigung einer möglichst großen Menge an der Stelle, wo das Objekt liegt, gewährleistet.

Direktes Sonnenlicht ist, wie bekannt, zum Mikroskopieren nicht geeignet; zur Mikrophotographie kann es mit Vorteil als die stärkste Lichtquelle verwendet werden, auch für das Ultramikroskop, das aber für bakteriologische Untersuchungen eine praktische Bedeutung bis jetzt nicht hat gewinnen können. Der scheinbaren Drehung der Sonne muß man dabei mit einem Heliostaten folgen; aber selbst wenn man ein tadellos funktionierendes Instrument besitzt, ist das Arbeiten mit Sonnenlicht immer mißlich, vor allem dadurch, daß man für kürzere oder längere Zeit durch Atmosphärilien gestört wird. Darum nimmt man jetzt für intensive Beleuchtung elektrisches Bogenlicht, für Mikrophotographie kommt man schon mit Zirkonsauerstofflicht und selbst mit dem Lichte einer großen Nernstlampe aus.

Für die gewöhnlichen mikroskopischen Arbeiten ist das weiße Licht, wie es von einer Wolke oder einer gegenüberliegenden hellen Wand zurückgeworfen wird, am beliebtesten; wenn man aber feinere Beobachtungen, namentlich an ungefärbten oder lebenden Objekten machen will, zieht man künstliche Beleuchtung vor.

Künstliche Beleuchtung erzielt man am einfachsten mit Auer-, Spiritus- oder Petroleumglühlicht oder mit Acetylenlicht oder aber mit einer Petroleumlampe nebst Sammellinse, als welche eine sogenannte Schusterkugel mit ammoniakalischer Kupferlösung gefüllt verwendbar ist. Elektrisches Bogenlicht ist für das Auge zu intensiv. Nernstlicht ist zu gebrauchen.

Bei der Mikrophotographie stellt man eine Auerlampe 40 bis 50 cm entfernt vom Kondensor des umgelegten Stativs auf, so daß das Bild der Flamme genau in der Mitte liegt, wenn man oben in den Tubus des Mikroskops hineinsieht. Die Helligkeit genügt für Aufnahmen bei schwacher und mittelstarker Vergrößerung und ist für die Augenbeobachtung mit der Oelimmersion die geeignete.

Für Arbeitszwecke wird gewöhnlich das aufrechtstehende Mikroskop benutzt und dann das Licht vom Spiegel aufgefangen und nach dem Kondensor geleitet. Unter diesen legt man bei Auerlicht eine matte, bei gelbem Petroleumlicht eine blaue Scheibe ein. Die Lampe

Digitized by Google

kann dazu nach Art der Fig. 3 mit Scheinwerfer versehen werden. Aehnliche Reflektoren werden auch für Auerlicht gefertigt, und zwar sowohl für einen als auch für zwei Arbeitsplätze.

Die Okulare sind entweder die gewöhnlichen Huygensschen oder für Apochromaten die aus Apochromatengläsern hergestellten Kompensationsokulare (s. S. 6). Die gewöhnlichen Okulare pflegen von den Fabrikanten von den schwächeren zu den stärkeren aufsteigend entweder mit arabischen oder mit römischen Zahlen numeriert zu werden, ohne daß damit etwas über die Vergrößerung ausgesagt ist. Sie ist bei den schwachen etwa 3- bis 4fach, bei den gewöhnlich benutzten mittelstarken 5- bis 7fach und bei den starken etwa 9fach. Die Kompensationsokulare sind von C. Zeiß mit Zahlen bezeichnet worden, die die Vergrößerung unmittelbar angeben. So liefert z. B. ein Okular 12 mit Oelimmersion 3 mm, deren Eigenvergrößerung 83fach ist, eine 996- oder rund 1000fache Vergrößerung.

Fig. 3.

Okularmikrometer sind Glasscheiben mit skalen- oder netzförmigen Teilungen, die auf dem Diaphragma im Innern des Okulars Platz finden. Vollkommener, aber auch bedeutend teurer sind die von C. Zeiß konstruierten Okularschraubenmikrometer.

Die Werte der Intervalle sind bei jeder Linsenkombination verschieden und müssen für jedes Objektiv und bei gewöhnlichen Mikrometern auch für jedes Okular mit Hilfe des Objektmikrometers genau bestimmt werden.

Ein Objektmikrometer ist für bakteriologische Arbeiten, speziell für Plattenzählungen, bei denen der Flächeninhalt des Gesichtsfeldes zu berechnen ist, unentbehrlich, und zwar braucht man eines, bei dem 1 cm in Millimeter und davon 1 mm in Zehntelmillimeter geteilt ist. Ein feineres Objektmikrometer, bei dem 1 mm in Hundertstelmillimeter geteilt ist, braucht man notwendig für mikrophotographische Arbeiten, bei denen die Vergrößerung, wie sie auf der Mattscheibe erscheint, genau bestimmt werden soll.

Eine Okularzählscheibe ist auf meine Veranlassung von E. Leitz gefertigt worden, um beim Zählen der Kolonien auf Platten dem Auge Anhaltspunkte zu geben, insbesondere aber um bei dicht besetzten Platten Teile des Gesichtsfeldes von bestimmter Größe auszählen zu können (Näheres s. bei Wasseruntersuchung). Das in einer Fassung befindliche Glasplättchen wird in ein Okular gelegt oder besser mit einem Okular fest verbunden, dessen Augenlinse ausziehbar ist, um die Teilung für das Auge scharf einstellen zu können; die eingeritzten Kreise und Strichkreuze zeigt Fig. 4 etwas vergrößert; die einzelnen Kreise sind in Wirklichkeit 1 mm voneinander entfernt und der äußerste hat 10 mm im Durchmesser. Mit Hilfe des Objektmikrometers wird die Größe des betreffenden, für die Auszählung gewählten Kreises bei der gegebenen Linsenkombination ermittelt.

Zeichenapparate sind für geübte Zeichner in manchen Fällen brauchbar, wenn es sich bloß darum handelt, die Größen und das ungefähre Aussehen zu skizzieren. Aber die Feinheiten im Bau der

Digitized by Google

Bakterien und namentlich die außerordentlich komplizierten Zeichnungen vieler Kolonien wird kaum je ein Zeichenstift richtig wiedergeben können. Hierzu eignet sich einzig und allein die Photographie.

Einige Winke für den Gebrauch des Mikroskops. Die Einstellung bereitet bei Trockensystemen keine Schwierigkeit. Mittels des groben Triebs wird das Objektiv dem Objekt genähert, bis das Bild erscheint. Ganz schwache Objektive erheischen oft gar keine feinere Einstellung, dagegen muß man bei mittelstarken und starken Vergrößerungen die Mikrometerschraube benutzen. Außerdem ist zu beachten, daß bei Trockensystemen eine Blende angewendet werden muß, auch wenn man gefärbte Präparate hat.

Bei Verwendung von Tauchsystemen wird das Präparat mit einem Tröpfchen Immersionsflüssigkeit versehen auf den Objekttisch gelegt. Dann neigt man den Kopf und hält das Auge etwa in die Höhe des Objekttisches, schraubt gleichzeitig mit der Hand den groben Trieb der gegenüberliegenden Seite so weit, daß die Linse an oder in das Oel gelangt (in diesem Augenblick leuchtet der Rand des Objektträgers und des Deckglases auf), alsdann noch weiter, bis sie das Deckglas beinahe berührt. Bei ungefärbten Präparaten empfiehlt es sich sogar, von vornherein mit der Linse so nahe ans Deckglas heranzugehen, daß eine ganz minimale Festklemmung bereits erfolgt, die eben so gering ist, daß auch die empfindlichste Linse unmöglich Schaden leiden kann. Nun erst sieht man ins Okular, geht mit der einen Hand an die Mikrometerschraube, faßt das Präparat mit zwei Fingern der anderen Hand, um sogleich fühlen zu können, falls die Linse das Präparat schon oder noch mehr festklemmen sollte. Die Mikrometerschraube wird sehr vorsichtig von links nach rechts (entgegen dem Uhrzeiger) gedreht, so daß sich der Tubus hebt. Hat das Objektiv das Präparat berührt gehabt, so wird man in der richtigen Einstellung wenig fehlgehen, wenn man, ohne in den Tubus zu sehen, den Kopf der Mikrometerschraube etwa 14 Intervalle (verschieden je nach den Systemen und Deckglasdicken) nach oben schraubt. Sieht man dann in den Tubus, so genügt ein ganz geringes Hinundhergehen mit dem Schraubenkopf, um die scharfe Einstellung zu bekommen.

Fig. 4.

Will ein genügend scharfes Bild nicht erscheinen, so ist meist eine Verschmutzung oder eingetrocknetes Oel u. dergl. die Ursache der Verschleierung. Oder es ist ein Luftbläschen im Oeltropfen, das man erkennt, wenn man das Okular herausnimmt und in den Tubus sieht; man beseitigt es durch wiederholtes Aus- und Eintauchen des Objektivs und Verschiebung des Präparats. Manchmal ist der Grund vielleicht auch der, daß die Linse durch Unachtsamkeit aus der Fassung gedrückt worden ist, sei es durch zu starkes Anpressen ans Präparat oder durch unvorsichtige Behandlung mit einem den Linsenkitt lösenden Mittel, wie Xylol u. dergl. Ein solches System muß an die Fabrik geschickt werden.

Die Reinigung der Systeme vom Oel geschehe stets mit der

Digitized by Google

Flüssigkeit, die der Fabrikant dafür vorschreibt: Zeiß verlangt Benzin, Leitz Alkohol. Man nimmt ein sehr weiches, öfter gewaschenes Baumwolltuch (feine alte Taschentücher) oder feinstes Fließpapier, sogenanntes Josephspapier, befeuchtet es mit Benzin oder Alkohol und wischt die Linse ab. Da die geschliffenen Gläser leicht geritzt werden und das schon durch anhaftenden Staub möglich ist, so wende man nicht den geringsten Druck an und wische mit dem feuchten Tuch oder mit Josephspapier lediglich die Metallfassung ringsum ab, wobei einzelne Fasern die Linse erreichen und reinigen. Ja ich unterlasse die Reinigung bei stets in Benutzung stehenden Systemen viele Tage, ja selbst wochenlang, um jener Möglichkeit auszuweichen; einen schädlichen Einfluß des eintrocknenden Oeles auf die Linsen und ihre Einkittung habe ich in vielen Jahren nie wahrgenommen. Staub von Okularen beseitigt man mittels eines weichen Pinsels.

Der Objekttisch ist sorglich vor Verunreinigungen zu bewahren, namentlich vor Berührung mit verflüssigten Gelatinekolonien bei der Untersuchung von Plattenkulturen. Säuren, Alkalien, Sublimat u. s. w. lassen auf ihm und auf der Lackierung des Stativs und der Linsenfassungen untilgbare Flecke zurück.

Fig. 5.

Bei Nichtgebrauch wird das Mikroskop vor Licht geschützt im Mikroskopkasten oder unter einer Glocke von braunem Glase (Fig. 5) aufbewahrt. Licht und Staub, auch Feuchtigkeit der Luft, wirken mit der Zeit schädlich auf die Linsen und auf die Lackierung der Metallteile ein. Man vermeide unnötige Dampfentwicklung im Raume.

Ein Mikroskop ist ein achtunggebietendes Kunstwerk und muß mit der größten Rücksicht behandelt werden!

Auswahl. Mikroskope sind zu den verschiedensten Preisen zu haben, der niedrigste dürfte für ein Instrument mit brauchbarem Stativ, gutem Beleuchtungsapparat, 2 guten Trockensystemen und einer leistungsfähigen Oelimmersion auf etwa 230 Mk. anzusetzen sein. Man nehme lieber ein etwas vollkommener ausgestattetes Instrument, vorzügliche müssen wesentlich höher bezahlt werden.

Die deutsche Arbeit steht mit der Firma C. Zeiß in Jena obenan. Für bakteriologische Untersuchungen einschließlich aller histologischen eignet sich etwa folgende Zusammenstellung nach Katalog Nr. 32 unter Berücksichtigung der Billigkeit:

Stativ III in Erlenholzschrank mit rundem Tisch von 100 mm Dchm., gewöhnl. Kondensor num. Ap. 1,20 nebst Irisblende, ohne Diaphragmenträger B, sonst wie Fig. 1	Mk. 235.—
Achromatische Objektive a_3, DD (ohne Korrektion)	„ 66.—
Homogene Immersion $^1/_{12}$, num. Ap. 1,30	„ 160.—
Huygenssche Okulare Nr. 2 und 4	„ 14.—
Revolver für 3 Objektive	„ 27.—
Objektmikrometer 1 cm in 10 mm, 1 mm in 10 Teile	„ 6.—
Okularzählscheibe (im Katalog nicht aufgeführt) mit Okular, ungefähr	„ 15.—
Summe	Mk. 523.—

Wer noch vollkommenere Einrichtungen, Ergänzungen zum Stativ, höhere numerische Apertur des Kondensors oder der Oelimmersion

Digitized by Google

wünscht, findet Näheres im Katalog, dessen eingehende Durchsicht jedem Mikroskopierenden angelegentlichst empfohlen sei. Ueberlegenere Systeme findet man bei den Apochromaten; dann würde ich, um in späterer Ausdehnung der Arbeiten auf Mikrophotographie und mikroskopische Projektion nicht gehindert zu sein, vorschlagen, das dafür geeignete Stativ zu wählen, zunächst in folgender Kombination, die später ergänzt werden kann:

Stativ für Mikrophotographie und Projektion mit großem Kreuztisch und gewöhnl. Kondensor num. Ap. 1,40 (für bakteriologische Zwecke genügt auch num. Ap. 1,20)	Mk.	400.—
Apochromattrockensystem 8 mm, num. Ap. 0,65	„	100.—
Apochromat. Homogene Immersion 3 mm; num. Ap. 1,30	„	300.—
Kompensationsokulare 6, 8, 12	„	80.—
1 Tubus- und 2 Objektivschlittenstücke	„	30.—
Lederbehälter für 3 Schlitten und Objektive	„	6.—
	Summe Mk.	916.—

Als Arbeitssystem für schwache Vergrößerungen, mit dem sich, wie mit jedem anderen, photographische Aufnahmen machen lassen, kann noch a_3 um 12 Mk. dazu genommen werden.

Wesentlich billigere und dabei vorzügliche Instrumente liefert E. Leitz in Wetzlar. Speziell die Oelimmersion $^1/_{12}$ ist in ihrem Verhältnis von Leistungsfähigkeit zum Preise (100 Mk.) hervorzuheben. Auch die Trockensysteme und die mechanische Einrichtung sind sehr gut und preiswert. In meinem Institute sind außer einigen größeren sämtliche Arbeitsmikroskope entsprechend der Nr. 9 oder 9a des Leitzschen Katalogs Nr. 41 in Gebrauch mit der kleinen Abänderung, daß der Kopf der Mikrometerschraube auch bei diesem kleineren, für alle gewöhnlichen Untersuchungszwecke vollkommen ausreichenden Stative mit einer Teilung versehen ist, was gegenüber dem Katalogpreis eine Steigerung um 3 Mk. ausmacht. Anstatt des im Katalog aufgeführten schwachen Trockensystems 3 halte ich das im gleichen Preis (15 Mk.) stehende System 2 für die Durchmusterung der Platten, Zählung der Kolonien und Abimpfungen unter dem Mikroskop für viel geeigneter. Das mittlere Mikroskop Nr. 9a unterscheidet sich von 9 hauptsächlich dadurch, daß es einen drehbaren Hartgummitisch mit zwei seitlichen Schrauben zur Zentrierung (s. S. 2) besitzt. Der Preis ist 313 Mk. gegenüber 303 Mk.; dabei sind inbegriffen Stativ im Kasten, Beleuchtungsapparat mit Irisblende, Revolver für 3 Objektive; ferner an Systemen:

Objekt 2 und 6; Oelimmersion $^1/_{12}$ num. Ap. 1,30; Revolver für 3 Objektive; Okular I, III, IV. Zu diesem Miskroskop um	Mk.	313.—
erachte ich außerdem noch als empfehlenswert:		
1 Okularmikrometer	„	5.—
1 Objektmikrometer 1 cm in 10 mm, davon 1 mm in 10 Teile geteilt	„	6.—
1 Okularzählscheibe (s. S. 9) in Okular II	„	10.—
1 ganz schwaches System 1* für Auszählungen nach Gesichtsfeldern oder Teilen davon und zur Ausmessung größerer Kolonien	„	8.—
	Summe Mk.	342.—

Für die Auswahl vollkommenerer Stative und optischer Einrichtungen, wie Abbeschen Beleuchtungsapparates, Apochromaten u. s. w., sei auf das Preisverzeichnis von E. Leitz in Wetzlar verwiesen.

Digitized by Google

Anerkannt solide und zuverlässige Mikroskope fertigen ferner W. & H. Seibert in Wetzlar, E. Hartnack in Potsdam, Winkel in Göttingen, C. Reichert in Wien. Persönliche Erfahrungen stehen mir darüber nur teilweise zu Gebote.

Sonstige Gebrauchsgegenstände und Hilfsmittel bei mikroskopischen Arbeiten.

Es gibt Bestecke, die das Nötigste in kompendiöser Form enthalten, so das von R. Koch angegebene, das in den Kasten des

Fig. 6.

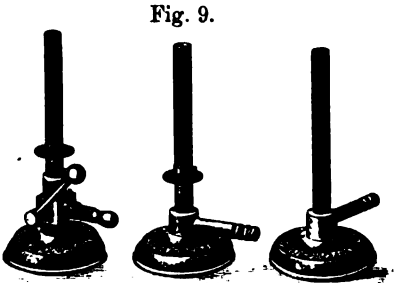
Fig. 7.

Mikroskops eingeschoben werden kann (Fig. 6), oder das nach M. Kirchners Angaben gefertigte Modell für Kreisärzte (Fig. 7). Ihren Inhalt einzeln aufzuzählen, würde hier zu weit führen.

Für den Laboratoriumsbetrieb sind noch viele andere Dinge er-

Fig. 8.

Fig. 9.



forderlich, die auf dem Mikroskopiertisch (siehe im Abschnitt über Laboratoriumseinrichtung) und in seiner Umgebung vorhanden sein müssen.

Nichtleuchtende Flammen sollen mindestens zwei in der Nähe des Mikroskops zur Verfügung stehen. Wenn Gas nicht vorhanden ist, nimmt man die gewöhnlichen Spirituslampen (Fig. 8); für Kochzwecke braucht man Petroleumbrenner nach Art der im Kapitel über Laboratoriumseinrichtung beschriebenen. Für Leuchtgas eignen

Digitized by Google

sich die Bunsenbrenner mit Sparflamme und von diesen wiederum diejenigen mit leicht umlegbarem Hebel nach Landmann, Fig. 9 a; b ist ein gewöhnlicher Bunsenbrenner mit Luftregulierungshülse, c der

Fig. 10.

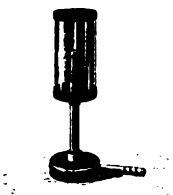
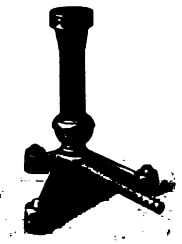


Fig. 11.



einfachste ohne solche. Fig. 10 stellt einen Reischauerschen Mikrobrenner dar, der auch ohne Luftregulierungshülse beim Kleinschrauben der Flamme nicht durchschlägt, Fig. 11 einen sogenannten Kanonen-

Fig. 12.

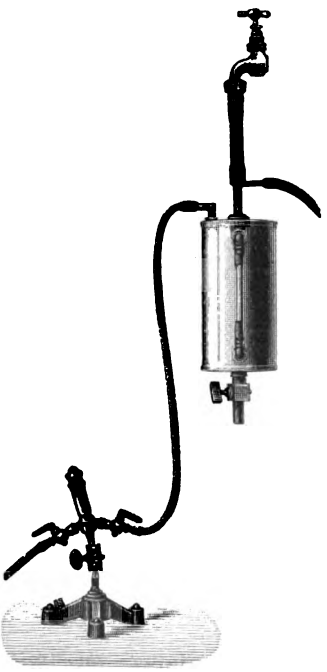
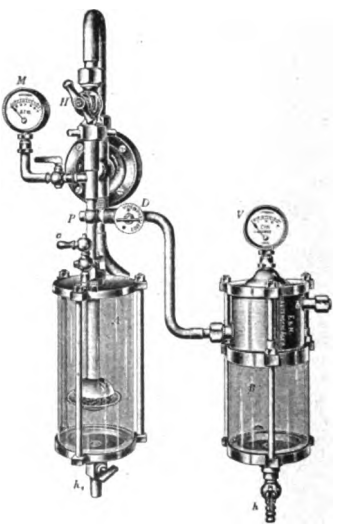


Fig. 13.



brenner für kräftigere Flamme. Zum Kochen eignen sich auch die in Haushaltungen und Küchen gebräuchlichen Apparate, wie einer z. B. in Fig. 90 abgebildet ist.

Einrichtung und Handhabung der Bunsenbrenner. Ueber ein kurzes, auf dem Sockel sitzendes Gasauslaßröhrchen ist das etwa 10 cm lange Rohr des Brenners gesteckt, das unten seitlich zwei Löcher für die Luftzufuhr besitzt. Das ausströmende Gas steigt so mit Luft gemischt nach oben und wird

Digitized by Google

dort entzündet. Wird der Gashahn ohne gleichzeitige Verminderung der Luftzufuhr langsam zugedreht, dann entzündet sich das Gas unter charakteristischem Geräusch unten am Auslaßröhrchen: die Flamme schlägt zurück. Wird nun nicht abgelöscht, so erhitzt sich der Brenner und kann unbrauchbar werden. Eine Luftregulierungshülse gestattet auch nichtleuchtende Flammen klein zu stellen; fehlt sie, so kann man sich durch Aufsetzen eines feinen Drahtnetzes auf die Rohrmündung helfen. Werden kalte Gefäße über die nichtleuchtende Flamme gehalten, dann schlägt sich auf ihnen Wasser nieder, das bei der Verbrennung des Gases entsteht; dies dauert so lange, bis das Gefäß genügend erwärmt ist. Glasflaschen muß man auf ein fehlerfreies Drahtnetz stellen und das an ihnen sich absetzende Wasser öfters abtrocknen, damit sie nicht zerspringen. Kolben aus sogenanntem Resistenzglas von Schott & Gen. in Jena halten jäheren Temperaturwechsel aus.

Gebläselampen sind zur Erzeugung größerer Hitze, z. B. zum Glasschmelzen, kaum zu enthehren (Fig. 12).

Wasserstrahlluftpumpen sind für Saugung und Druck eingerichtet; die der Fig. 12 ist von Metall und hat außen ein Wasserstandsrohr. Bei der Fig. 13 sieht man die innere Einrichtung. Das Wasser fließt nach A durch die etwas unterhalb der Mitte hängende Brause, die mitgerissene Luft strömt bei a unter Druck aus. Das Wasser verläßt die Trommel durch den Hahn h_1. Das Gefäß B wird bei Offenstellung des Hahnes D durch die in der Nähe bei p befindliche Saugvorrichtung evakuiert, wenn sein unten befindlicher Hahn h geschlossen ist und durch den seitlichen Einlaß b, der zur Verbindung mit einem weiteren zu evakuierenden Gefäß dient, keine Luft von außen nachströmen kann. Das Vakuummeter V zeigt die Höhe des negativen Druckes an. Das Gefäß B kann auch durch eine Woulffsche Flasche ersetzt werden, an der ein Quecksilbermanometer angebracht ist (s. Fig. 75, S. 36).

Fig. 14.

Fig. 15.

Einfache Saugpumpen ohne Druckvorrichtung sind billig aus Glas zu erhalten und in chemischen Laboratorien viel in Gebrauch (Fig. 14). Etwas teurer, dafür haltbarer sind die aus Metall. Der Wasserauslaßhahn, an dem solche Saugpumpen angebracht werden, muß so hoch über dem Abflußbecken sein, daß man unten noch einen Gummischlauch von 50 bis 75 cm Länge ansetzen kann, der erst die richtige Saugwirkung hervorbringt (Fig. 15). Alle Saugpumpen müssen mit einem Rückschlagventil verbunden sein, damit das Wasser bei plötzlicher Druckschwankung in der Leitung, z. B. wenn gleichzeitig an einer anderen Stelle abgezapft wird, nicht nach dem Vakuum gerissen werden kann. Die einfachste Anordnung ist die in Fig. 15 dargestellte, wo in einem birnförmigen Glasgefäß ein Gummiventil (mit feinem Schlitz am verbreiterten Ende) steckt, das bei Umkehrung des Drucks zusammengepreßt und so undurchgängig wird (vergl. Fig. 75, S. 36).

Geräte zur Anfertigung mikroskopischer Präparate. Objektträger wählt man im gangbarsten Format 76 : 26 mm aus weißem oder grünlichem Glase mit geschliffenen Kanten; an ungeschliffenen verletzt man sich leichter.

Digitized by Google

Hohlgeschliffene Objektträger mit rundem Ausschliff von etwa 15 mm Dchm. und solcher Tiefe, daß ein am darüber gelegten Deckglase haftender dicker Tropfen (s. Fig. 77, S. 38) den Grund nicht berührt.

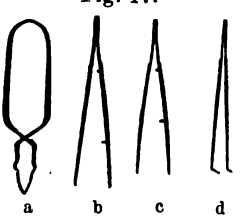
Deckgläser quadratisch von 18 mm Seite, für Ausnahmefälle auch einige mit größerer Seitenlänge. Die Dicke soll nicht mehr als 0,16 bis 0,17 mm betragen. Zu dünne Gläschen von 0,08 mm sind wegen ihrer Zerbrechlichkeit weniger handlich.

Die Reinigung erfolgt am einfachsten mit etwas Wasser oder verdünntem Alkohol und einem weichen Tuch. Oft bekommt man ganze Reihen von Gläsern, auf denen sich trotz solcher Reinigung ein Flüssigkeitströpfchen nicht gleichmäßig zum Präparat verteilen läßt. Dann hilft nicht zu weit getriebene Erhitzung unmittelbar über der Flamme oder auf einem Stück Schwarzblech oder im Trockensterilisierungsschrank bei 160 bis 200°. Für Objektträger, deren man öfters sterilisierte zu anderen Zwecken braucht, lasse man einige passende Blechschachteln fertigen, die etwa 50 Stück aufnehmen und die Erhitzung auf 200° ertragen.

Wie die Gläser für gewisse heikle und schwierigere Färbungen gereinigt werden, ist bei der Darstellung der Geißelfärbung beschrieben.

Fig. 16.

Fig. 17.



Manche Deckgläser und Objektträger werden mit der Zeit trübe, matt und hauchartig beschlagen. Das ist nach den Untersuchungen von R. Weber auf einen abweichenden Gehalt an Kalk und Alkali (Kali oder Natron) zurückzuführen. Ist der Bestand an Kalk gegenüber den Alkalien zu gering, so beschlägt sich das Glas bald an der Luft, bedeckt sich mit einer feinen tauartigen Schicht oder einem reifähnlichen Hauch aus löslichen, alkalischen Zersetzungsprodukten, die leicht eine Schädigung oder Zerstörung der mikroskopischen Präparate herbeiführen (FdM. 11. 49).

Quadratische Platten aus schwarzem und weißem Glase von etwa 15 cm Seitenlänge oder größere dienen zum Auflegen der Deckgläser und Präparate, um sie besser zu sehen, eine Glasglocke mit Knopf von etwa 14 cm Dchm. dazu, sie vor Staub zu schützen.

Präparatenmappen zur Aufbewahrung fertiger Präparate gibt es in verschiedenen Mustern. Die einfachsten sind die kastenförmigen, in denen die Präparate übereinander liegen; die Objektträger müssen dann mit Schutzleisten versehen sein, die leichter abspringen als Papieretiketten. Eine gute Ordnung hat man in den hölzernen Behältern nach F. S. Schmidt, die bis zu 300 und mehr Präparate in numerierten Zahnleisten aufnehmen; über den Inhalt muß man Buch führen. Die beste Uebersicht gewähren die flachen Mappen der Fig. 16.

Digitized by Google

Pinzetten müssen in genügender Zahl vorhanden sein, sowohl gewöhnliche anatomische, als auch kleinere mit feinen Spitzen (Fig. 17b und c). Zum Auseinanderziehen von 2 Deckgläsern, zwischen denen ein Tropfen Flüssigkeit ausgebreitet ist, überhaupt zum Halten von Deckgläsern sind die Ehrlichschen sogenannten Blutpinzetten gut geeignet; es sind anatomische ohne Riffelung an den Faßarmen und ähnliche, die nach Art der Schieberpinzetten zusammengeklemmt werden

Fig. 18.

Fig. 19.

Fig. 21.

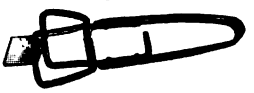


Fig. 20.

Fig 22.

können. Die Kühnesche Pinzette (Fig. 17d) dient ebenfalls zum Halten der Deckgläser und zwar in einer Weise, daß mit ihnen wie mit einem Spatel Schnitte unter Wasser aufgefangen werden können.

Die Cornetsche Pinzette ist weitaus die gebräuchlichste bei bakteriologischen Arbeiten. Sie ist zuerst von F. & M. Lautenschläger

Fig. 23.

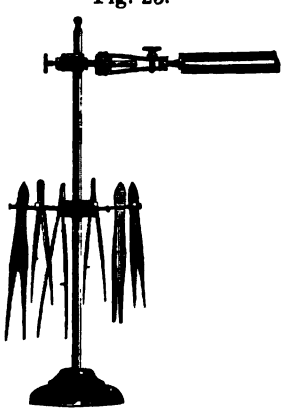


Fig. 24.

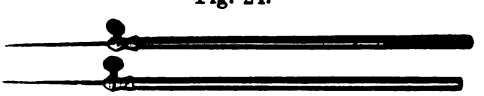
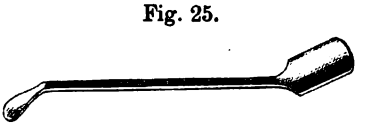


Fig. 25.



in der in Fig. 17a wiedergegebenen Form hergestellt worden und wird heute noch so geliefert. Man hat verschiedene Aenderungen an ihr zu machen versucht, so z. B. Faßarme mit 2 Enden (Fig. 18). P. Kaatzer hat eine aufstellbare Pinzette angegeben, bei der in die Riffelung jedes Faßarms eine Längsnute gefeilt ist, in die das Deckglas zu liegen kommt (Fig. 19; DmW. 97. 752).

Objektträgerpinzetten gibt es ebenfalls in verschiedenen Ausführungen: solche nach Art der Deckglaspinzetten, deren einer Faßarm kreisförmig gestaltet ist (Fig. 20); oder größere mit 2 Doppelfaßarmen, wie die der Fig. 21 oder die nach R. Abel (Fig. 22; C. 18. 782). Sie sind sämtlich am entgegengesetzten Ende mit Bleibeschwerung versehen.

Digitized by Google

Das Färbegestell nach L. Heim für Objektträgerpräparate oder zum Auflegen von Cornetschen Pinzetten ist in Fig. 23 abgebildet; nur wird der die Präparate tragende Rahmen meistens größer, nämlich für 6 Objektträger gefertigt. Er ist mit Kugelgelenk an einem Stativ befestigt, so daß man mit einer Flamme bequem darunter fächeln oder eine Sparflamme in geeigneter Entfernung unterstellen kann. Durch Drehung im Kugelgelenk wird eine sanfte Neigung bewerkstelligt, damit die auf den liegen bleibenden Objektträgern befindliche Flüssigkeit ablaufen kann. An dem Stativ befindet sich noch eine Vorrichtung zum Aufhängen ausgeglühter Pinzetten, die durch einen zentral durchlochten Kork mit seitlich eingesteckten Nägeln improvisiert werden kann; ferner läßt sich an einer geeigneten Klemme ein Ring zum Auflegen eines Uhrglases anbringen.

Als Präpariernadeln dienen Nähnadeln, die in einem Griff mit Schraube befestigt werden (Fig. 24).

Spatel (Fig. 25), Skalpelle, Scheren, gerade und gebogene.

Platindrähte werden entweder aus Platin oder aus einer Legierung von Platin und Iridium genommen; letztere ist härter und eignet sich besonders bei dünnen Drähten. Die gebräuchlichen Stärken sind 0,4 bis 0,6 bis 0,8 mm.

Platinnadeln. Stücke von ungefähr 6 bis 12 cm Länge werden in etwa 18 bis 25 cm lange Glasstäbe eingeschmolzen. Dazu verflüssigt man das eine Ende in der Flamme, schmilzt allenfalls etwas rotes Bleiglas an und drückt das ebenfalls glühende Ende des mit einer Pinzette gehaltenen Platindrahtes außerhalb der Flamme in das weiche Glas, worauf der entstehende Glasklumpen durch leichtes Ziehen sogleich wieder etwas verlängert wird. Bequemer und sicherer für den Gebrauch sind die Kolleschen Nadelhalter (DRGM. bei F. & M. Lautenschläger, Berlin; Fig. 26).

Die Drähte werden am Ende verschieden gestaltet. Gerade spitzt man nadelförmig zu. Dies kann mit einer Feile geschehen, besser aber dadurch, daß man in der sehr heißen Gebläseflamme oben ein Stückchen auszieht und abreißt. Durch Umbiegen der Spitze entsteht ein Häkchen, durch Breitklopfen eine Schaufel. Eine breite Fläche ist auch mittels 6- bis 7maligem Einrollen des Drahtendes zu erzielen.

Platinösen werden am einfachsten durch kreisförmige Biegung des Endes eines nicht zu schwachen Drahtes hergestellt. Zur Erzielung bestimmter Größen dienen die Oesenbieger von Czaplewski, die Oesen von 1, 2, 3 und 5 mm Dchm. (Fig. 26) geben. Mit dünneren Drähten werden die Oesen folgendermaßen hergestellt: Ein Draht von etwa 12 cm Länge wird in der Mitte abgebogen. Beide Enden werden zusammen in einen Glasstab eingeschmolzen oder in einem Nadelhalter befestigt. Den Stab klemmt man in einem Schraubstock fest oder läßt ihn von einem Gehilfen halten, dann nimmt man gleichsam als Knebel einen Oesenbieger, steckt ihn durch die Schlinge und dreht die beiden Drähte so lange um ihre Achse, bis die Schlinge fertig ist.

Zur Eichung der Oesen auf ihr Fassungsvermögen taucht man sie etwa 20- bis 30mal in destilliertes Wasser, tupft auf einem genau gewogenen Filtrierpapier ab und glüht sie jedesmal wieder aus; aus der Gewichtsvermehrung des Papiers wird das durchschnittliche Gewicht

Digitized by Google

eines Tröpfchens berechnet (v. Sehlen). Genauer ist die Titriermethode von M. Ficker. Der die Oese tragende Platindraht wird bis zu einem bestimmten Punkt in eine Säure von bekannter Stärke getaucht und in einem Gefäß so lange mit destilliertem Wasser gespült, bis er keine Säurereaktion auf Lackmus mehr erkennen läßt. Dies wird öfter wiederholt und der Draht dazwischen immer ausgeglüht und erkalten gelassen. Durch Titrierung des säurehaltigen Spülwassers und Durchschnittsberechnung erfährt man das Fassungsvermögen einer Oese (Diss. Leipzig 1895, S. 10).

Platinnadeln und -ösen werden — das mache man zur festen Regel — vor und nach dem Gebrauch stets in der Flamme geglüht

Fig. 26.

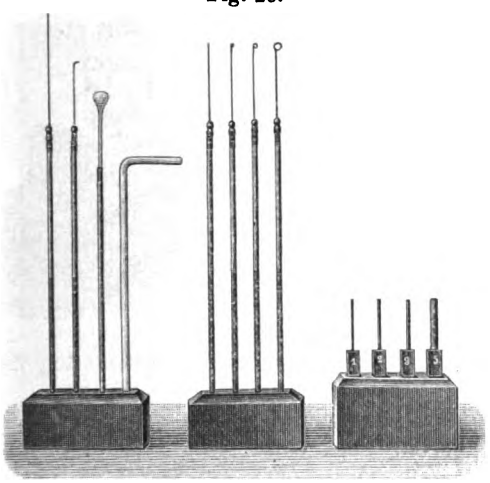


Fig. 27.

und in einem mit passenden Einbohrungen versehenen Holzklotz wie in Fig. 26 aufrecht gestellt, nicht auf den Tisch gelegt!

Abspülvorrichtungen. Ein Wasserauslaß mit Ausgußbecken darf nur zum Spülen ungefährlicher und harmloser Dinge verwendet werden, sowie zum Abwaschen von Gebrauchsgegenständen und der Hände. In der Nähe seien außer Seife und häufig zu wechselnden Handtüchern Desinfektionslösungen bereit gestellt, wie 1promill. Sublimat- oder 3proz. Lysollösung u. dergl. Letztere befinden sich am geeignetsten in größeren Flaschen, die auf einem höher an der Wand befestigten Träger stehen und mit doppelt durchbohrten Stopfen versehen sind, durch deren eine Bohrung ein Heberrohr mit Schlauch und Quetsch- oder Glashahn nach unten führt (Fig. 27). Anstatt mit einem Quetschhahn kann man den Verschluß durch Einschiebung eines kurzen Glasstäbchens in den Schlauch herstellen; bei Gebrauch wird der Gummi von Stäbchen seitlich abgezogen.

Eine solche Flasche mit destilliertem Wasser dient zum Abspülen von gefärbten Präparaten. Dazu darf auch gewöhnliches Wasser genommen werden, nur eben nicht direkt unter der Leitung. Man kann es in einen an die Wand gehängten Irrigator füllen oder in einer Spritzflasche vorrätig halten. Eine geeignete zeigt Fig. 28; die

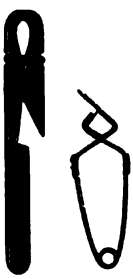
Digitized by Google

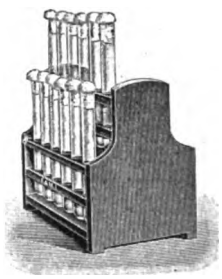
Auslaßröhren sind so kurz gehalten, damit sie nicht, wie in chemischen Laboratorien gebräuchlich, zum Munde geführt werden.

Zum Auffangen des Spülwassers werden noch vielfach Glasschalen benutzt, wie eine solche in der Fig. 27 eingezeichnet ist. Das ist ein Fehler! Denn da die Schüsseln infektiöse Flüssigkeiten aufzunehmen haben, müssen sie im Dampf sterilisierbar sein. Man nehme also metallene aus Emailblech von solchem Durchmesser, daß sie in den Dampftopf passen.

Zum Trocknen der gefärbten Präparate dienen mehrfache Lagen Filtrierpapier, die zum Schutze der drüber streichenden Finger gegen etwa durchfiltrierende bakterienhaltige Flüssigkeit mit einem Karton (Postkarte oder dergl.) bedeckt werden. Das gebrauchte Papier wird

Fig. 28. Fig. 29. Fig. 30. Fig. 31.





bald verbrannt, die Kartons sollen stets mit einer bestimmten Seite nach oben sehen.

Für feste Abfallstoffe, die aber nicht infektiös sein dürfen, sei ein Eimer von Emailblech oder ein Topf von Steingut (Fig. 29) vorhanden.

Glaswaren und Zubehör. Reagenzgläser müssen aus gutem Material gefertigt sein, so daß sie mehrmalige trockene Sterilisation aushalten, ohne Risse zu bekommen. Man lasse sich nicht durch scheinbare Billigkeit verleiten, minderwertiges Glas anzuschaffen! Die gebräuchlichste Größe ist 160 : 16 mm, daneben führe man engere von 150 : 13 mm und für Agglutinations- und Präzipitationsversuche kleine von etwa 80 : 8 mm.

Reagenzglasklemmen zum Halten beim Kochen (Fig. 30) nehme man lieber aus Metall als aus Holz. Man kann sie durch einen Streifen mehrfach zusammengelegten Papiers ersetzen, der oben ums Röhrchen herumgelegt und zu einer Handhabe gedreht wird (s. bei Diphtheriediagnose).

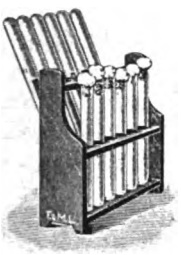
Zylinderförmige Bürsten sind zum Reinigen der Reagenzgläser nötig.

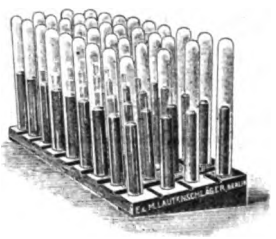
Reagenzglasgestelle seien in hinreichender Zahl vorhanden; sie sollen standsicher und zweigeschossig sein (Fig. 31) und teils 12, teils 24 Röhrchen aufnehmen können; ihre Durchlochungen seien 18 bis 20 mm weit. Es gibt auch welche mit Zapfen zum Aufstülpen der Röhrchen (Fig. 32); lieber nehme man für diese Trocknungen eigene Zapfenbretter der Fig. 33. Für Reisen eignen sich zerlegbare Reagenzglasgestelle aus Blech (Fig. 34).

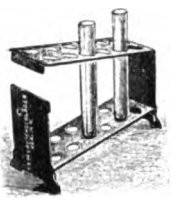
Digitized by Google

Flaschen mit eingeriebenen Stopfen, darunter einige von braunem Glase, werden in der Größe von 150 ccm Inhalt am meisten benötigt; außerdem größere von ½ und 1 l Inhalt. Etwas geringer kann der Vorrat an Flaschen mit weitem Halse (sogenannten Pulverflaschen) sein. Jede Verwechslung der eingeriebenen Stopfen ist

Fig. 32. Fig. 33. Fig. 34.







dem Verluste gleich zu achten. Die nur aus zuverlässiger Quelle bezogenen Flaschen müssen sofort beim Empfang mit den zugehörigen Stopfen übereinstimmend numeriert werden; dazu gehört ein Diamantstift zum Schreiben auf Glas oder eine Glasätztinte.

Glasätztinte kann nur in Guttaperchafläschchen aufbewahrt und muß abseits von Glaswaren gehalten werden. Sie ist in größeren Drogerien käuflich. Bei Selbstbereitung braucht man Reibschalen aus Blei oder Guttapercha; gleiche Teile von feingeschlämmtem Baryumsulfat und Fluorammonium werden mit Fluorwasserstoffsäure bis zur Sirupdicke versetzt.

Eine nichtätzende, aber zur Signierung von Flaschen, Objektträgern u. dergl. verwendbare schwarze Tinte erhält man durch Mischung von 1 bis 2 Teilen Wasser-

Fig. 35. Fig. 36. Fig. 37. Fig. 38.

glas mit 1 Teil flüssiger chinesischer Tusche, eine weiße Tinte für dunkle Gläser aus 3 bis 4 Teilen Wasserglas und 1 Teil Baryumsulfat; die weiße trocknet sehr langsam (Schoebel, FdM. r. 13. 571).

Die Signierung der Standgefäße sieht am schönsten aus, wenn die Schrift eingebrannt ist. Am haltbarsten ist die weiße, die nur den Nachteil hat, daß sie auf weißen Pulvern schwer lesbar ist. Da es in bakteriologischen Laboratorien viele besondere und wechselnde Aufschriften für Farbgemische u. s. w. gibt, wird man nicht alle Aufschriften eingebrannt haben können. Zur Bezeichnung solcher Vorratsgläser, ja selbst ganzer Bestände ist der Signierapparat von J. Pospisil in Olmütz (Mähren) zu empfehlen.

Zylinder für Präparate u. dergl. mit eingeriebenem Stopfen s. Fig. 35, mit aufgeschraubtem Deckel Fig. 36.

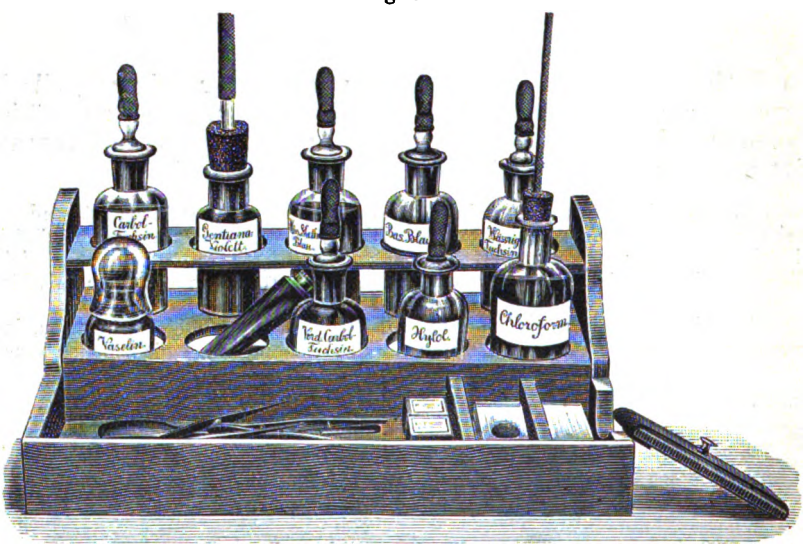
Digitized by Google

Medizinflaschen aus gewöhnlichem Glase zu 50, 100, 200, 500 und 1000 ccm Inhalt.

Patenttropfflaschen (Fig. 37) eignen sich sehr gut für Alkohol, Xylol u. s. w., sowie zur Abmessung von Flüssigkeiten; in letzterem Falle ist darauf zu achten, daß die Hohlrinne im Hals der Flasche nicht eine Luftblase in Flüssigkeit eingeschlossen enthält; sie läßt sich dadurch vermeiden, daß man das nicht bis oben gefüllte Fläschchen vorsichtig in wagrechte Lage bringt.

Flaschen für Farblösungen. Zum Gebrauch können gewöhnliche 150 g-Flaschen mit eingeriebenem Stopfen benutzt werden, namentlich wenn man viel auf Objektträgern färbt, die ganz mit Farblösung bedeckt werden. Die wenigen Tropfen, die man für Deckgläser benötigt, entnimmt man gewöhnlich aus Farbfläschchen der Fig. 38;

Fig. 39.



Medizinfläschchen von 50 ccm Inhalt, durch deren Korkstopfen eine Glaspipette gesteckt ist; oder aus Fläschchen mit eingeschliffenen Pipetten und Gummihütchen, deren mehrere in einem Gestell Fig. 39 vereinigt sind. Bei Farbstoffen, deren Lösungen die eingeriebenen Stopfen leicht zum Anbacken bringen, wie Gentianalösung, sind Flaschen mit Korkstopfen vorzuziehen. Das in der Fig. 39 vorhandene Chloroform dient zur Abpinselung des Immersionsöls vom Deckglas; besser geschieht die Wegnahme durch Abtupfen des Oels mit Filtrierpapier, nachdem man einige Tropfen Xylol aufgegeben hat. Die Tube im zweiten Fach der unteren Reihe ist mit neutralem Kanadabalsam gefüllt.

Glasstäbe und Glasröhren in verschiedener Stärke (kiloweise zu beziehen), Glasmesser oder -feile und Sprengkohle, allenfalls auch ein Diamant zum Schneiden von Glas.

Das Abbrechen von Glasstäben und -röhren geschehe unter einer Tuchumhüllung, nachdem vorher mit der Feile eingeritzt worden ist. Die Bruchstellen müssen stets in der Flamme rund geschmolzen werden. Bei weiteren Röhren, z. B. Reagenz-

Digitized by Google

gläsern, wird ein kurzer, nicht zu seichter Feilenstrich gemacht, eine glühende Sprengkohle an ihn gesetzt und angeblasen, bis ein Sprung entsteht; dann legt man die Sprengkohle ans Ende des Sprungs u. s. w., bis der Riß ringsum geht. Bei dicken Röhren ersetzt man die Sprengkohle durch die äußerste Spitze einer Gebläseflamme.

Biegungen von Röhren macht man über einem Schwalbenschwanzbrenner und mit leuchtender Flamme; man hält die Röhre so lange hinein, bis das Ende anfängt zu sinken, und vermeidet durch Unterstützung die rasche Entstehung eines spitzen Winkels; Röhren mit weitem Lumen werden vor der Erhitzung mit feinem Sand gefüllt und ringsum gleichmäßig erweicht.

Zur Herstellung von Kapillaren faßt man ein Röhrchen mit beiden Händen

Fig. 40.

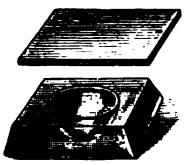


Fig. 41.

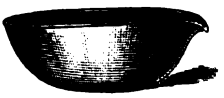


Fig. 44.

Fig. 42.

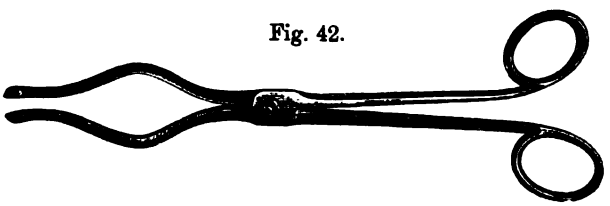


Fig. 45.

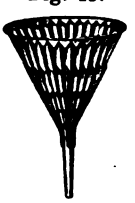


Fig. 43.

a b

und erhitzt es in der Mitte; ist das Glas zähflüssig, so wird es durch sanftes Zusammenschieben noch etwas verdichtet, hierauf aus der nichtleuchtenden Flamme genommen und jetzt erst bis zur gewünschten Dünne nicht zu rasch ausgezogen.

Uhrgläser von 40 bis 50 bis 100 mm Dchm. werden von manchen Untersuchern noch bei der Färbung von Deckglaspräparaten benutzt. Soll die Farblösung darin erhitzt werden, so legt man das Uhrglas auf einen am Stativ angeschraubten kleinen Ring; ein Drahtnetz braucht nicht untergelegt zu werden, das Glas springt nicht, wenn die kleine Flamme, etwa die Sparflamme eines Bunsenbrenners, einige Zentimeter unterhalb steht, so daß sie das Glas nicht berührt.

Blockschälchen, quadratisch von 34 bis 40 mm Seitenlänge mit einem runden Ausschliff von etwa 30 mm Dchm. und 8 mm Tiefe nebst Deckplatte (Fig. 40), sind den Uhrgläsern wegen ihrer Standsicherheit bei weitem vorzuziehen. Sollen die Beiz- oder Farbflüssig-

Digitized by Google

keiten in ihnen erhitzt werden, so stellt man sie entweder auf ein heißes Eisenblech oder in den Dampftopf.

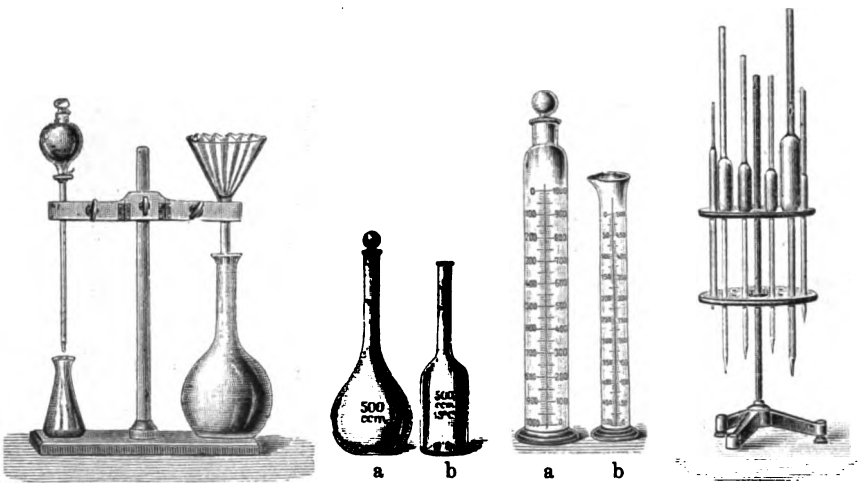
Abdampfschalen von Porzellan mit Ausguß von 50 bis 160 mm Dchm., mehrere Sätze, allenfalls noch einige größere von 250 bis 300 mm Weite (Fig. 41). Zum Anfassen heißer Geräte dient eine Schmelztiegelzange (Fig. 42).

Reibschalen mit Pistill von etwa 100 mm Dchm. (Fig. 43a).

Achatmörser mit Pistill von etwa 50 oder 80 mm Dchm. (Fig. 43b); nicht unbedingt nötig; 1 Stück genügt.

Spitz- oder Kelchgläser zum Absetzenlassen von Flüssig-

Fig. 46. Fig. 47. Fig. 48. Fig. 49.



keiten (Fig. 44) 130 bis 190 mm hoch und von 50 bis 70 mm oberem Dchm.

Trichter in größerer Auswahl von 40 bis 200 mm oberem Dchm. Einige sollen auch von Emailblech sein. Namentlich die größeren müssen beim Filtrieren in einen der Ringe des Stativs gesetzt werden; eigene Filtrierstative sind nicht unbedingt erforderlich. Rippentrichter (Fig. 45) eignen sich nur für nichtinfektiöse Flüssigkeiten, da sie sich nicht heiß sterilisieren lassen. Einen Scheidetrichter zeigt Fig. 46.

Kochkolben zu 100, 300, 500, 750, 1000 und 1500 ccm Inhalt (s. Fig. 46); Kolben mit verlängertem und trichterförmig erweitertem Halse zum Kochen überschäumender Flüssigkeiten hat v. Borosini (C. 28. 23) angegeben.

Erlenmeyersche Kölbchen zu 50 und 100 ccm Inhalt in größerer Anzahl und mehrere größere (s. Fig. 46 unter dem Scheidetrichter).

Meßgefäße: Glaskolben Fig. 47a mit Marke und eingeriebenem Stopfen für ½ und 1 l. Die Stomannschen Meßflaschen Fig. 47b gestatten wegen ihres engeren Halses genauere Abmessung.

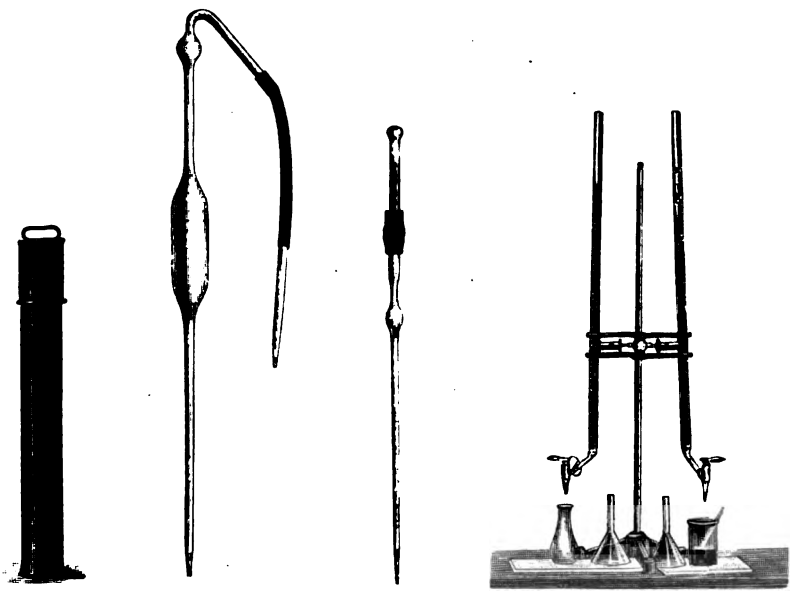
Meßzylinder mit Fuß und Ausguß zu 5, 10, 50, 100, 500 und 1000 ccm Inhalt (Fig. 48b); Mischzylinder mit Fuß und eingeriebenem Stopfen zu 100 und 1000 ccm (Fig. 48a).

Digitized by Google

Pipetten. Vollpipetten zu 1, 2, 5, 10, 25, 50, 100 ccm. Die mit 2 Marken versehenen erlauben genaueres Arbeiten. Dazu ein Gestell nach Art der Fig. 49. Beim Gebrauch achte man auf Trockenheit des Glasrandes und der Finger. Zum Sterilisieren werden die Pipetten in eine geeignete Büchse (Fig. 50) gegeben.

Sicherheitspipetten sind solche, die mit einer kugelförmigen Erweiterung versehen sind, wie in Fig. 51; zum Aufsaugen und Ueberführen giftiger und infektiöser Flüssigkeiten hat man sogenannte Giftpipetten nach A. Meyer, s. Fig. 52. Man kann sich eine solche herstellen, wenn man über eine gewöhnliche Pipette oben ein nur wenig

Fig. 50. Fig. 51. Fig. 52. Fig. 53.



weiteres Glasrohr mit passendem Gummischlauch überschiebt; beim Ansaugen wird die obere Oeffnung mit dem Finger verschlossen.

Meßpipetten. Die einfachsten sind die Wasserpipetten, bei denen 1 ccm in 10 Teile geteilt ist. Für Blutserumabmessungen bei Agglutinations- und ähnlichen Versuchen benutzt man solche mit 100 Teilen eines Kubikzentimeters; je kleinere Teile abgemessen werden sollen, desto mehr wird sich das Lumen der Kapillare nähern; graduierte Pipetten mit gleichmäßig weiter Kapillare sind nicht billig. Um ganze Kubikzentimeter und dazu noch hundertstel ausfließen lassen zu können, hat P. Ehrlich in $^1/_{100}$ ccm geteilte Röhren unten mit je einem weiteren Ansatz ähnlich einer Vollpipette von verschiedenem Inhalt versehen lassen. Kapillarpipetten hat G. Gabritschewsky in zwei Größen, einmal für 0,001 bis 0,1, ferner für 0,01 bis 1,0 ccm angegeben und sie am oberen Ende mit einem Gummischlauch und darauf sitzender Schraubenklemme versehen (C. 10. 248). E. Küster hat, um beim Ansaugen eine Infektion zu vermeiden und die angesaugte Flüssigkeit sicher auf dem erreichten Skalenpunkt einstehen zu lassen, einen

Digitized by Google

Saugapparat verwendet, an den die Pipette durch Verschraubung luftdicht angesetzt werden kann; er ist einer Spritze ähnlich; eine Feder und ein steiles Schraubengewinde sorgen für eine sehr sanfte und gleichmäßige Vor- und Rückwärtsbewegung des Stempels (C. 40. 270).

Büretten. Für einfache Zwecke genügen solche mit angesetztem Gummischlauch und Quetschhahn nebst Ausflußspitze (Fig. 90, S. 80). Für feinere Titrierungen und empfindliche Flüssigkeiten sind Glashahnbüretten vorzuziehen; am meisten sind die zu empfehlen, bei denen der

Fig. 54.

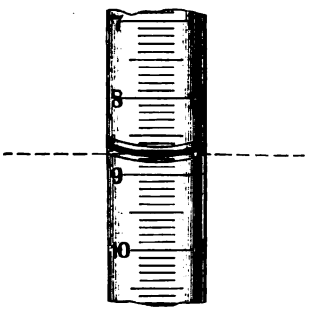


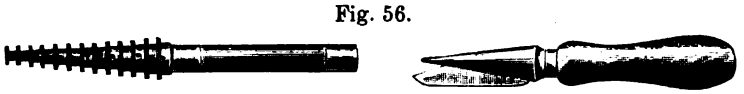
Fig. 55.

Hahn in einem stumpfwinklig abgehenden Fortsatz sitzt (Fig. 53). Die Hähne sind zum Schutze gegen Verwechslung lose anzubinden. Man braucht mindestens zwei ganz gleiche Büretten von 50 ccm Inhalt mit Teilung in $^1/_{10}$ ccm.

Als Bürettenhalter läßt sich jede passende Stativklemme verwenden, die in einer Doppelmuffe sitzt. Es gibt eigene Stative mit verschiedenartigen Klemmen; daß sie manchmal mangelhaft sein können, zeigt Fig. 53, wo die eine Bürette schief sitzt.

Beim Ablesen des Flüssigkeitsstandes in Büretten, Meßkolben

Fig. 56.



oder Pipetten bringe man das Auge in gleiche Höhe mit dem Niveau und berücksichtige jedesmal nur den untersten Punkt des dunkeln Meniskus (Fig. 54). Die Ablesung wird durch Benutzung eines Bürettenschwimmers erleichtert (Fig. 53 rechts oberhalb der Mitte).

Thermometer mit Milchglasskala sind besser ablesbar als die mit Teilung auf der Röhre; sie sei von — 10 ° bis 100 °, bei anderen bis zu 250 °; will man sie auf ihre Richtigkeit prüfen, so ist dazu ein Normalthermometer und gut vermischtes erwärmtes Wasser erforderlich.

Korkstopfen verschiedener Größe und von guter Beschaffenheit; sie werden vor dem Gebrauch durch eine Korkpresse (Fig. 55) schmiegsam gemacht oder einfacher durch Walken mit einem Lineal auf dem Tisch. Zum Durchlochen gehört ein Korkbohrer, ein Satz von 12 Stück aus Messing mit Korkbohrerschärfer (Fig. 56).

Gummistopfen für Flaschen von 100 ccm an und für engere und weitere Hälse, darunter größere mit doppelter Durchbohrung. Im Notfalle werden die Bohrungen mit dickem, heißem Draht gemacht.

Digitized by Google

Gummikappen für die eingeschliffenen Pipetten auf Farbstofffläschchen, sowie für Reagenzgläschen. Die zylinderhutförmigen sind den flachen vorzuziehen (Fig. 57). Kleine mit der Zeit entstehende Undichtigkeiten lassen sich durch Ueberpinselung mit Traumatizin (Lösung von Guttapercha in Chloroform) notdürftig dichten. Als billigen Ersatz empfahl W. Hesse den bei der zahnärztlichen Tätigkeit abfallenden Cofferdam. Man braucht zwei quadratische Stücke von

Fig. 57.

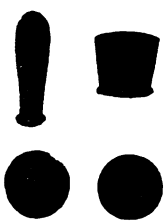
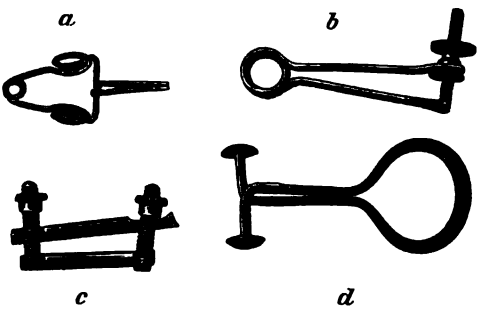


Fig. 58.



etwa 3 cm Seitenlänge, von denen das eine mit einem Locheisen von etwa 2 mm Dchm. durchbohrt ist; nachdem das erste über den Wattestopfen gelegt ist, streift man das durchlochte darüber (C. 27. 258).

Gummischläuche, enge und weite von 1 bis 8 mm im Lichten, in kleineren Mengen, ferner starkwandige Schläuche für Luftpumpen.

Fig. 59.

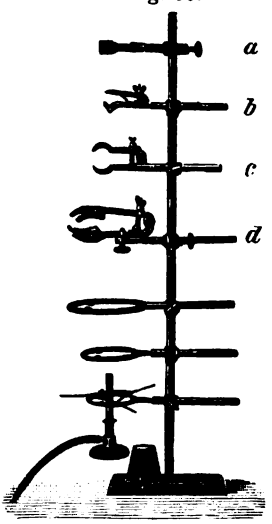
Rote und schwarze sind teurer. Für die Verbindung der Gasauslaßhähne mit den Brennern auf den Arbeitstischen (nicht mit denen an Brut- und Sterilisierungsapparaten!) genügen die üblichen grauen sogenannten Gasschläuche. Für andere Laboratoriumszwecke nimmt man gewöhnlich die schwarzen Gummischläuche. Sollen sie über Glas- oder Metallstücke gezogen werden, befeuchte man sie zuvor. Für die Aufbewahrung wird Einstellung eines Gefäßes mit Terpentinöl oder Ammoniak empfohlen, auch Einlegen in Salzwasser; hart gewordene Schläuche erlangen ihre Biegsamkeit in warmem Wasser oder durch

Digitized by Google

wiederholte Einlegung in warme 5- bis 6proz. Lösungen von Ammoniak wieder.

Quetschhähne verschiedener Form; am meisten wird die der Fig. 58d gebraucht; ferner kleine Schraubenquetschhähne (c), größere (b) und Klemmen (a).

Fig. 60.



Außerdem: Glaswolle, Asbestpappe, Fließpapier, Haarpinsel, Leinwand- oder Baumwolläppchen, Josephspapier, Mull, entfettete und nicht entfettete Watte.

Aufschriftzettel aus gummiertem nicht zu steifem Papier, auf einer Seite mit Mucilago Gummi arabici überzogen (1 Teil abgewaschenes arabisches Gummi in 2 Teilen Wasser gelöst und durchgeseiht, dann versetzt mit etwa 8 bis 10 % Milchzucker und einigen Tropfen 5proz. Phenollösung).

Stifte zum Schreiben auf Glas und Porzellan in Blau oder Gelb.

Lackmuspapier, rotes und blaues, auf Postpapier.

Exsikkatoren mit einem Durchmesser von 130 bis 150 mm und Einsatz von Porzellan oder nur einem runden Stück Drahtgewebe. Der untere Teil wird mit Chlorcalcium oder Phosphorsäureanhydrid gefüllt; ersteres ist handlicher. Solche mit seitlich angesetztem Tubus und Glashahn zur Evakuierung werden ebenfalls, aber seltener gebraucht (Fig. 59). Die Deckel müssen

Fig. 61.

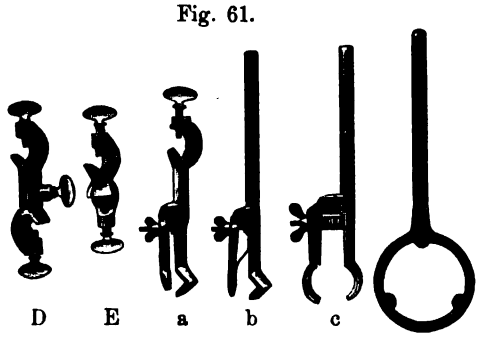
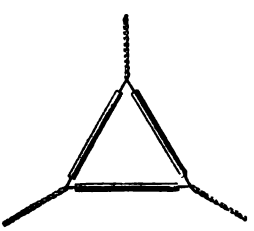


Fig. 62.



auf dem breiten Rande des Gefäßes gut aufgeschliffen sein; sie werden mit Vaselin oder mit Mischwachs (2 Teilen Schweinefett und 1 Teil Bienenwachs) oder dergl. gedichtet.

Stative wähle man etwa in der Zusammenstellung der Fig. 60 mit einem mitten oder seitlich im Sockel eingefügten Stab von 800 mm Höhe und 13 mm Dicke. Dazu gehören je 3 Ringe und mehrere Klemmen, die mittels sogenannter Muffen am Stativ befestigt werden. Muffen braucht man wenigstens sechs (Fig. 61 E), darunter eine bewegliche Doppelmuffe (Fig. 61 D). Von Klemmen sind die gebräuchlichsten unter b und c abgebildet; Klemme a hat den Nachteil, daß

Digitized by Google

ihr Abstand vom Stativ nicht verstellbar ist. Die Doppelklemme d ist zum Halten von Kühlrohren bei Destillationen, Rückflußkühlern und sonstigen dickeren Röhren u. dergl. verwendbar; sie wird gewöhnlich mit einer beweglichen Doppelmuffe festgehalten. Die Ringe haben Durchmesser von 8, 10 und 13 cm.

Drahtdreiecke mit Tonröhren (Fig. 62) müssen beim Kochen in Kolben zwischen diese und die Ringe gelegt werden.

Drahtnetze werden noch zwischen Kolben und Drahtdreieck eingeschaltet, wenn man nicht die widerstandsfähigen Gläser von Schott & Gen. benutzt. Die Netze sind quadratisch von 15 bis 20 cm Seitenlänge aus dünnmaschigem Eisen- oder Kupfer- (nicht Messing-)gewebe geschnitten.

Asbestpappe wird bei langsamem Kochen zum Schutze gegen

Fig. 63.

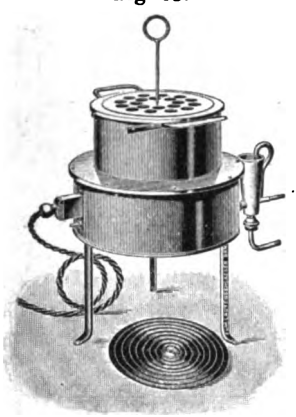
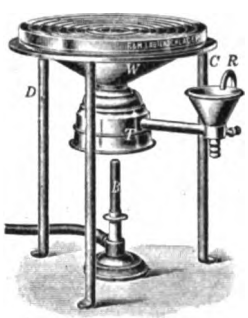


Fig. 64.



Anbrennen des Inhalts benutzt. Für Sandbäder bedarf man eiserner Schalen von etwa 20 cm Dchm.

Dreifüße sind zum Aufsetzen von größeren Gefäßen erforderlich; es seien mehrere vorhanden von etwa 10, 14 und 18 cm Ringdurchmesser.

Kochtöpfe in verschiedener Größe von 12, 15, 20, 25 cm Dchm. mit Deckel. Man nehme emaillierte Blechtöpfe und zu jedem einen durchlochten Einsatz mit Füßchen, damit Glasplatten u. dergl. nicht unmittelbar auf den Boden zu liegen kommen. Das Auskochen geschehe in ungefähr 1¼proz. Sodalösung. Ein Gefäß mit Kristallsoda und ein Löffel oder ein Meßgefäß sei in der Nähe.

Wasserbäder gibt es in Form eiserner, innen emaillierter Töpfe oder konisch. Fig. 63 zeigt die Topfform mit Vorrichtung für elektrische Heizung und einem Einsatz für Reagenzgläser an Stelle der Ringe; 64 ein konisches Wasserbad, bei dessen Gebrauch wegen der geringen Wassermenge viel Gas erspart wird. C ist das durch den seitlichen Ansatz zu erzielende konstante Niveau, R das gebogene Rohr zur tropfenweisen Zuführung des Speisewassers; T ist eine unten offene Hülse über dem kleinen Wassergefäß zur besseren Ausnutzung der Verbrennungsgase und zum Aufstellen des Bades W beim Nichtgebrauch, falls es vom Dreifuß D weggenommen wird.

Digitized by Google

Wagen. Eine chemische Wage (Fig. 65) ist nur für feinere Bestimmungen nötig. Man wählt eine kurzarmige Analysenwage für 200 g Belastung mit 0,1 mg Empfindlichkeit, Reiterverschiebung, Pinselarretur und einem Satz vergoldeter oder platinierter Gewichte, z. B. von G. Westphal in Celle oder von F. Sartorius in Göttingen. Der Platz werde ihr auf einem möglichst wagrechten Tisch in einem

Fig. 65.

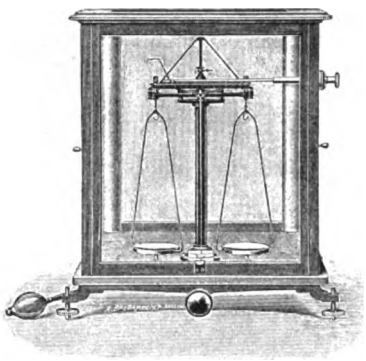
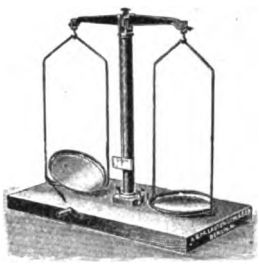


Fig. 66.



gleichmäßig erwärmten Raum entfernt vom Fenster angewiesen, damit sie nicht von den Sonnenstrahlen getroffen wird.

Eine sogenannte technische Wage (Fig. 66) für ½ kg Belastung reicht für gewöhnliche Zwecke; sie soll noch 0,01 g genau abzuwägen gestatten; dazu ein Gewichtsatz (Fig. 67).

Eine Wage mit größerer Tragfähigkeit, etwa eine Tafelwage für 5 kg Belastung, sei für schwerere Sachen vorhanden, dazu ein Gewichtsatz, etwa wie Fig. 67, und außerdem noch ein 1- und ein 2 kg-Gewicht. Statt einer solchen kann recht gut auch die Tierwage nach Duenschmann (siehe Fig. 155, S. 159) verwendet werden, nachdem der für das Tier bestimmte Behälter und sein Gegengewicht abgenommen worden sind. Man hat dann eine Dezimalwage für mehrere Kilo Belastung, mittels deren noch Zehntelgramme genügend genau abwägbar sind; schwerere Dinge werden auf die obere, leichtere auf die untere Platte gelegt und abgewogen.

Fig. 67.

Eine Wage zur Bestimmung des spezifischen Gewichts von Flüssigkeiten nach Mohr-Westphal ist mitunter erwünscht. Man wähle die größere Nummer 2, deren Handhabung durch eine beigegebene Gebrauchsanweisung leicht verständlich gemacht ist. Etwas billiger und bequemer zu handhaben, aber nicht so genau ist ein Satz von Aräometern.

Im Anschluß hieran seien endlich noch Apparate besprochen, die zu mikroskopischen, wie zu Züchtungs- und anderen Untersuchungen unentbehrlich sind, nämlich für Zentrifugierung und keimfreie Filtration.

Digitized by Google

Zentrifugen.

Die Ausschleuderung dient dazu, spezifisch schwerere und leichtere in Flüssigkeiten schwebende Teilchen zu trennen. Dies gelingt mit größeren Zellen und Zellverbänden, mit Kristallen und amorphen flockigen Ausscheidungen meistens gut, und wenn an ihnen Bakterien sitzen, so erhält man auch diese im Sediment, dagegen sind freischwebende Bakterien nur schwer auszuschleudern, weil ihr spezifisches Gewicht von dem der Flüssigkeit zu wenig verschieden ist; dieser Unterschied wird durch Begeißelung von Bakterien noch mehr verwischt. Schon in der ersten Auflage dieses Buches habe ich mitgeteilt, daß ich in einem absichtlich mit Typhusbazillen versetzten Wasser nach 3 Minuten langer Ausschleuderung im Bodensatz nicht mehr Keime finden konnte als in der Mitte und an der Oberfläche. Ich hatte damals nur mit einer kleinen Handzentrifuge gearbeitet; vielleicht hätte ein Instrument mit größerer Zentrifugalkraft bessere Ergebnisse geliefert. Meine damaligen Ergebnisse sind von H. Menzi (ZfH. 39. 421), sowie von A. Nebel (AfH. 47. 57) mit tuberkelbazillenhaltigen Flüssigkeiten bestätigt worden; letzterer hat im Sediment des homogenisierten Sputums „nicht mehr Keime, als ihm seinem Gewicht und seinem Volumen nach zukommen", gefunden. Wird ein Niederschlag künstlich, z. B. durch Ausfällung gewisser Salze, die man sich bilden läßt, etwa durch Eisen- oder Bleiverbindungen, erzeugt, dann werden die Bakterien von ihm mechanisch niedergerissen. Für derartige Ausfällungen und solche von suspendierten Gewebszellen, Blutkörperchen u. s. w. leistet die Zentrifuge sehr gute Dienste.

Die Apparate sind entweder für Hand- oder Motorbetrieb eingerichtet; in letzterem Falle wird als treibende Kraft Elektrizität, für kleinere Wasser genommen, wenn der erforderliche Druck vorhanden ist. Man wende sich nur an ganz zuverlässige Firmen, denn durch minderwertige Ware sind nicht bloß recht unnötige Kosten, sondern auch Gefahren für Leben und Gesundheit herbeigeführt worden, indem mangelhaft gebaute Apparate zerborsten und ihre Stücke umhergeschleudert worden sind. Mitunter zerbrechen die Gläser oder es werden Flüssigkeitströpfchen herausgeschleudert; deshalb sollen alle Schleudervorrichtungen mit einem soliden Korb aus Metall umgeben und mit einem Deckel bedeckt sein. Der Untersucher muß sorgfältigst auf absolut gleiche Belastung achten, die Röhrchen müssen sämtlich genau mit der gleichen Menge Flüssigkeit gefüllt sein; viel besser als mit dem Augenmaß erfolgt dies durch gegenseitige Austitrierung auf der Wage. Selbst geringe Gewichtsunterschiede machen sich an einem hörbar ungleichmäßigen Gang der Maschine bemerkbar, die dabei in ihrem Gefüge fortwährend schädigende Erschütterungen und Stöße erleidet.

Zentrifugen mit Handbetrieb sind von Stenbeck-Litten (DmW. 91. 749) in die medizinische und von P. Ehrlich als größere Apparate in die bakteriologische Untersuchungstechnik eingeführt worden. Die Fig. 68 zeigt ein Modell mit leichtem Antrieb, bei dem geräuschloser Gang und große Tourenzahl, soweit man das von solchen Instrumenten verlangen kann, zu erzielen ist. Die Tourenzahl beträgt

Digitized by Google

etwa 1000 in der Minute, bei recht intensivem Drehen wird man sie vielleicht auf 1500 bringen können. Die 4 Röhrchen fassen zusammen etwa 50 ccm, also jedes etwa 12 ccm.

Zentrifugen mit Wasserbetrieb beanspruchen einen Wasserdruck von mindestens 2 Atmosphären an der Verwendungsstelle. Das

Fig. 68.

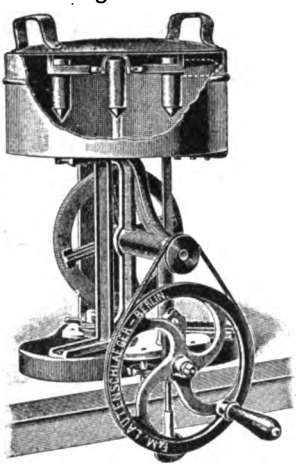
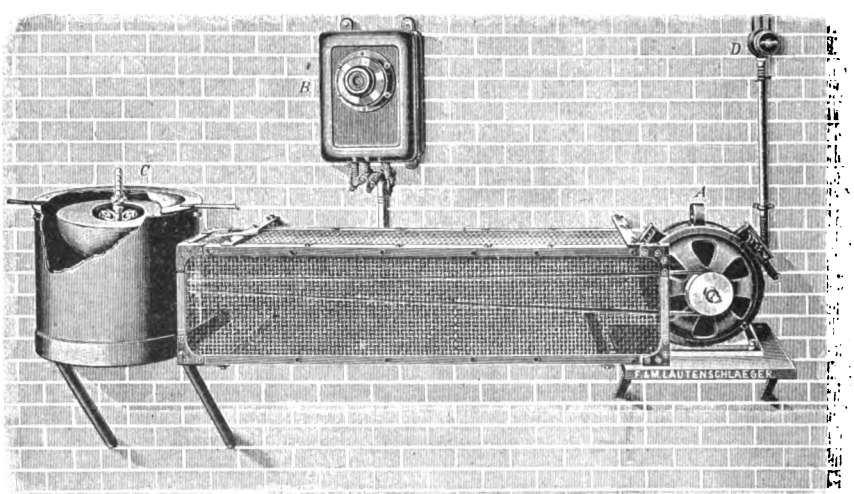


Fig. 69.

Wasser setzt die Turbine 1 (Fig. 69) in Bewegung und wird dann an einem Punkte a abgefangen, um den Gang des Werkes nicht wieder

Fig. 70.



zu hemmen. Die Achse liegt in einer Laufbüchse, die von Zeit zu Zeit mit einem Tropfen Nähmaschinenöl zu schmieren ist. Die Tourenzahl beträgt je nach der Höhe des Wasserdrucks 1000 bis 1500 in der Minute. Von den vorhandenen 2 Röhrchen faßt jedes etwa 10 ccm.

Zentrifugen mit elektrischem Betrieb werden sowohl

Digitized by Google

für Laboratoriums- als auch für größeren Fabrikbetrieb gebaut. Sie können an eine vorhandene Kraft mit Transmissionsriemen in unmittelbare oder mittelbare Verbindung gesetzt werden.

Instrumente mit Anordnung des Triebwerks direkt unter der Welle sind weniger zu empfehlen; man wird gut tun, den Motor in jedem Falle getrennt von der Zentrifuge aufzustellen, wie Fig. 70 zeigt. Im Gegensatze zu der Wasserzentrifuge, bei der die Schutzkapsel feststeht und die Achse nur von Zeit zu Zeit geölt zu werden braucht, dreht sich hier der Mantel mit den Gläschen, und die Achse schwimmt in Oel.

In der Verlängerung der Achse befindet sich ein Tourenzähler (Gyrometer), das ist ein teilweise mit Alkohol gefülltes Glasrohr, in dem sich ähnlich wie in einer Libelle eine Luftblase befindet. Diese Blase nimmt bei den Umdrehungen eine elliptische Gestalt an, die umso länger wird, je größer die Tourenzahl ist. Diese Zähler sind die genauesten, die im Handel zu haben sind, und werden von der physikalisch-technischen Reichsanstalt geeicht. Andere, z. B. solche, die nach je 100 Umdrehungen ein Glockensignal ertönen lassen, sind weniger zuverlässig, da hier subjektive Empfindungen mit herangezogen werden. Die ganze Zentrifuge steht in einem Panzerschutzmantel, dessen doppelte Wand mit einem elastischen Material ausgefüllt ist. Er ist mit einem flach gewölbten Deckel verschlossen.

Der Antrieb erfolgt durch einen Elektromotor von ½ PS, der von der Fabrik (F. & M. Lautenschläger, Berlin) so geliefert wird, daß er sowohl bei Gleich- als auch bei Drehstrom regulierbar ist. Dazu ist ein Tourenregulator B vorgesehen, der dem beim Antrieb sich einstellenden Widerstand in entsprechender Weise begegnet; man braucht nur das in der Mitte befindliche Handrad (bei Gleichstrom ist es ein Hebel) ganz allmählich auf vollen Strom zu stellen; beim Auslaufenlassen muß in der gleichen Weise nach und nach ausgeschaltet werden.

Die in der Fig. 70 abgebildete Zentrifuge enthält 4 Gläser von je 40 ccm Inhalt; man kann in die Hülsen auch kleinere Gläser von beliebigem Durchmesser einsetzen, wozu federnde Hülsen beigegeben sind. Größere Maschinen werden für ½ bis zu 10 l Flüssigkeit gebaut.

Die Tourenzahl beträgt bei den kleineren 4000, bei den größeren Zentrifugen mindestens 2500 in der Minute. Mehr kommen für bakteriologische Zwecke nicht in Betracht, da der Gewinn an Leistungsfähigkeit nicht im Verhältnis zum Herstellungspreise stünde.

In der Technik gibt es allerdings Zentrifugen für etwa 6- bis 10000 Umdrehungen. Die dazu geeigneten Instrumente können aber nur für gröbere Trennungen dienen, wie z. B. für die Entrahmung der Milch; sie sind wesentlich kleiner und für eine fortwährend darüber hinfließende Flüssigkeit bestimmt, während bei bakteriologischen Arbeiten die Flüssigkeit im Behälter bleiben muß. Für die Serumgewinnung dagegen haben sich kleine Zentrifugen als brauchbar erwiesen.

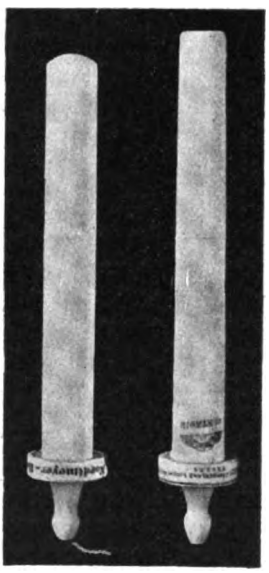
Berichte über größere Tourenzahlen von über 10000 in der Minute gehören ins Bereich der Fabel. Man rechne nur aus, wieviel Umdrehungen ein Röhrchenpaar in einer Sekunde machen müßte; 3000 Umdrehungen entsprechen bereits 50 in einer Sekunde!

Digitized by Google

Die Abfiltrierung der Keime.

Die Filtration durch bakterienzurückhaltende Schichten hat den Zweck, Flüssigkeiten von ihren Keimen vollständig zu befreien und allenfalls auch die Keime im Rückstand zu bekommen. Bisher waren dazu hauptsächlich Filter aus Ton oder Porzellan (Pasteur-Chamberland) oder aus Kieselgur (Nordtmeyer-Berkefeld) in Gebrauch, bei denen aber die letztere Bedingung nicht gut erfüllbar war, da die in die Poren der Masse zum größten Teil hineingedrückten Keime daraus nur schwer, das heißt höchstens durch Abkratzen der Masse zu erhalten waren.

Fig. 71.



Durch die **Hartfilter** mit ihren engen Poren muß die Flüssigkeit mit Kraft getrieben werden; das kann entweder durch positiven Druck mit dem Chamberlandschen Apparat (Fig. 76) gemacht werden oder, was häufiger geschieht, aber viel langsamer geht, durch Saugen mit einer Wasserstrahlluftpumpe. Ein keimfreies Filtrat läßt sich von allen Filtern nur für einige Zeit erwarten, die feinen Poren werden nach einem oder mehreren Tagen schließlich von den Bakterien durchwachsen.

Die Form der harten Filter ist meistens kerzenförmig. Fig. 71 zeigt eine Pasteur-Chamberlandsche und eine Nordtmeyer-

Fig. 72.

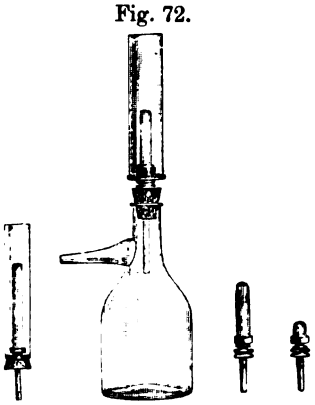
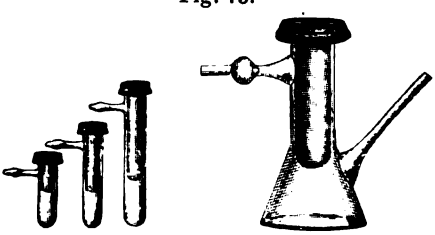


Fig. 73.



Berkefeldsche Kerze nebeneinander. Beide sind mit einem Porzellankopf versehen. Die Filtration findet von außen nach innen statt. Vielfach werden auch solche ohne Kopf gebraucht, bei diesen wird die Flüssigkeit in die Kerzen hineingegossen und dann von innen nach außen filtriert. Man hat sie in den verschiedensten Größen. Fig. 72

Digitized by Google

zeigt Kieselgurkerzen für Filtration von außen nach innen, die bei der Anwendung in Glaszylinder eingesetzt und auf ein Auffanggefäß gesteckt werden.

Fig. 73 stellt ein Filter dar, bei dem der Gang von innen nach außen erfolgt; und zwar ist hier die Anordnung nach P. Reichel abgebildet, bei der das Filter durch eine kragenartige Auskrempung an den Rand des Flaschenhalses gelegt werden kann; im Bilde sieht man nur die Gummikappe, die diese Verbindung dichtet.

Von sonstigen Konstruktionen ist die Anordnung von W. Pukall (Fig. 74) zu erwähnen. 'Einer besonders hartgebrannten und widerstandsfähigen Tonmasse ist eine ballonförmige Gestalt gegeben, um die Oberfläche zu vergrößern. Die zu filtrierende Flüssigkeit F wird in ein Becherglas B gefüllt und dann der Ballon hineingestellt. Die Flüssigkeit wird von außen nach innen gesaugt und gelangt durch Rohr R, dessen durch den Stopfen G gesteckter Schenkel bis auf den Boden des Ballons reichen muß, nach der Saugflasche S. Wenn der Ballon nicht ganz von Flüssigkeit bedeckt ist, tritt Luft oberhalb durch die Poren, wodurch die Filtrierung beeinträchtigt wird.

Fig. 74.

Alle diese Filter haben verschiedene Nachteile: sie sind schwer zu sterilisieren, man muß sie kalt in den Dampfapparat oder ins Wasser legen und die Wärme allmählich ansteigen lassen; einmal gebrauchte Zylinder sind durch Dampf oder Auskochen schwer keimfrei zu machen, weil die feuchte Hitze kaum ins Innere des Gefüges eindringt; sie werden deshalb zweckmäßiger ausgeglüht, was in einer Muffel zu geschehen hat; dabei muß vorsichtig erhitzt werden, damit die Filtermasse nicht Sprünge oder Risse bekommt.

Selbst neue Kerzen, und zwar hauptsächlich die aus Kieselgur gefertigten haben, wie E. v. Esmarch nachwies, Hohlräume im Innern, die ihre Leistungsfähigkeit in Frage stellen. Sie müssen deshalb vor jedem Gebrauch, wenn es genau darauf ankommt, auf Keimdichtigkeit geprüft und dann erst endgültig sterilisiert werden. E. v. Esmarch hat aber außerdem noch gefunden, daß ganz kleine Bakterien, und zwar das von ihm im Filtrat eines Gemisches von Faulflüssigkeiten erhaltene Spirillum parvum (Taf. X, Fig. 58), von allen den vorgenannten Filtersorten nicht zurückgehalten wurden (C. 32. 561).

Wenn man mit diesem **Spirillum parvum** Versuche anstellt, muß man als Nährflüssigkeit stark verdünnte Bouillon oder Peptonwasser nehmen und das Filtrat genügend lange Zeit, mindestens 14 Tage bis 3 Wochen beobachten, weil es sehr lange dauert, bis einzelne Keime so weit zur Kultur herangewachsen sind, daß die Flüssigkeit schwach trüb wird. Aussaaten in gewöhnlicher Reichlichkeit, also etwa Strichkulturen auf Gelatine geben schon binnen wenigen Tagen bei Zimmertemperatur eine sichtbare Kultur.

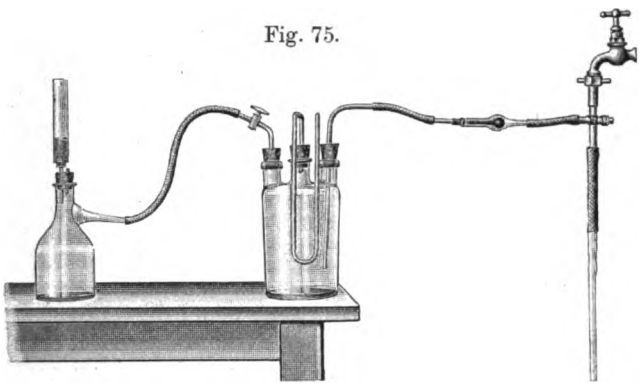
Filter aus Asbest sind von allen jenen Unzuträglichkeiten frei, sie sind, wie ich gefunden habe, in einfacher Weise und billig herzurichten, unzerbrechlich, leicht im Dampf sterilisierbar, verstopfen sich nicht zu rasch und liefern deshalb in kürzerer Zeit und in reichlicher Menge ein Filtrat, das bei richtiger Anordnung und Zurichtung der Filter-

Digitized by Google

masse keimfrei ist; selbst Spirillum parvum wird einwandfrei zurückgehalten. Der Rückstand ist aus den oberen Lagen Asbest, die man durch eine Schicht Filtrierpapier leicht abgrenzen und so abheben kann, ohne Schwierigkeit zu gewinnen. Das Asbestfilter liefert demnach die Bakterien mit viel größerer Sicherheit im Niederschlag als die Zentrifuge oder als eine Flüssigkeit, in der vorher ein Niederschlag erzeugt worden ist.

Derartige Filter sind zuerst in meinem Laboratorium beim Studium der schwebenden Stoffe behufs Nachweises von Flußverunreinigungen durch P. Schwenzer ausprobiert, dann für die bakteriologische Technik angewendet und weiter vervollkommnet worden. Die Verwendbarkeit festgestopften Asbestes zur keimfreien Filtration hat W. Hesse schon im Jahre 1885 nachgewiesen. Die von ihm

Fig. 75.



getroffene Anordnung sicherte jedoch noch kein keimfreies Filtrat, weil Flüssigkeitsteile selbst bei fest eingestopfter und zusammengepreßter Asbestmasse zwischen ihr und der Zylinderwand nach dem durchlochten Boden des Zylinders gelangen konnten.

Das Filter für bakteriologische Zwecke sitzt in einem Zylinder, der für negativen Druck aus Glas sein kann, für positiven Druck sicherheitshalber aus Metall gefertigt sein muß. In seinen Boden ist ein Siebkörper mit Vorrichtung zur Abfangung von Bakterien (DRP. angemeldet) eingelassen, über den Asbest gestopft wird.

Der Asbest wird vorher durch Auskochen in verdünnter Salzsäure von etwaigen Eisen- und Schmutzbeimengungen befreit und dann so lange gewaschen, bis wieder vollkommen neutrale Reaktion vorhanden ist. Der getrocknete Asbest wird zum Gebrauch in ausgekochtem warmem Wasser geweicht, mit einer Pinzette eingetragen und mit einem Holzstab und Holzkeil unter Vermeidung von Lückenbildung eingestopft, bis er etwa 8 bis 10 mm über dem Siebkörper steht. Will man den Rückstand gewinnen, legt man jetzt noch ein Scheibchen Filtrierpapier auf und stopft nochmal eine etwa 2 mm hohe Asbestschichte darüber. Letztere kann durch eine aufgelegte durchlochte Metallplatte beschwert werden; unbedingt nötig ist das aber nicht.

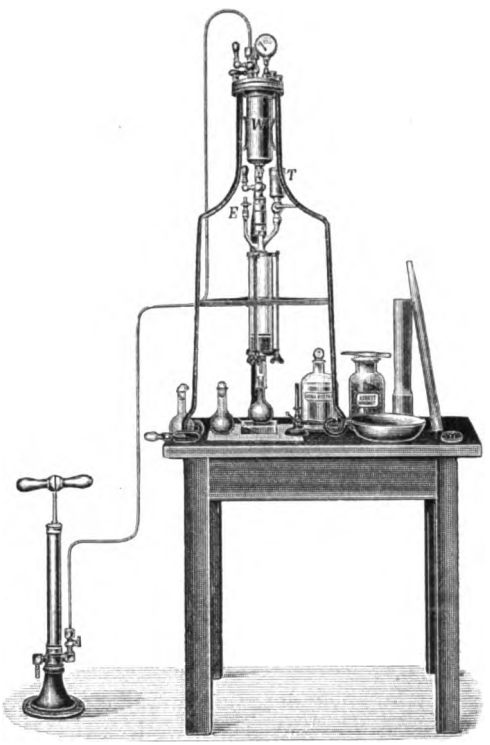
Ein solches Filter kann wie eines von Ton oder Kieselgur durch den Stopfen einer Saugflasche gesteckt und ebenso behandelt werden. Man verbindet (s. Fig. 75) eine Saugpumpe mit einem Rückschlagventil, dieses mit starkwandigem Gummischlauch mit einer Woulffschen

Digitized by Google

Flasche, an der ein abgekürztes Quecksilbermanometer angebracht ist, und schließt daran (ebenfalls mit starkwandigem Schlauch) die Flasche mit dem Filter an.

Ein Filter für positiven Druck zeigt Fig. 76. Unten auf dem Boden steht eine Luftpumpe, die durch ein auf Druck geeichtes Metallrohr mit dem Chamberlandschen Apparat verbunden ist. In einem Gestell ruht ein Windkessel W mit oben aufgesetztem Federmanometer und Luftauslaßhahn. Mit W ist der von mir angegebene Anschluß für das Filter verbunden, der gestatten soll, den Druck jederzeit aufzuheben und frische Flüssigkeit in den Filtrierzylinder zu geben. Dazu ist der Zylinder oben und unten von einer Metallplatte gehalten, die beide durch ein Gestänge mit Schrauben zusammengehalten und durch einen eingelegten Gummiring luftdicht angeschlossen werden können. In der Mitte der oberen Platte mündet das Ausführungsrohr von W ein, nach der einen Seite geht ein Rohr E mit Entlüftungshähnchen, nach der anderen Seite ein Rohr mit aufgesetztem Trichter T ab, durch den die Flüssigkeit nachgefüllt werden soll; ist dies geschehen, dann wird der Hahn bei E und T geschlossen und auf T außerdem ein Deckel aufgesetzt.

Fig. 76.



Unten am Auslaß des Filters ist eine Schutzvorrichtung gegen Hineingelangen von Keimen ins Filtrat angebracht. Sie entspricht der fast gleichzeitig von W. Hesse (DmW. 85. 71) und von J. Forster (J. van Geuns, AfH. 3. 468) angegebenen Anordnung und besteht darin, daß über das Ausflußrohr ein Stopfen geschoben ist, an dem ein kurzer Glaszylinder von solcher Weite steckt, daß der Hals eines untergestellten Kölbchens darin Platz hat.

Die Untersuchung im hängenden Tropfen.

Das Studium der Bakterien im lebenden Zustand muß ungestört von Strömungen geschehen, die unvermeidlich entstehen würden, wenn man eine Flüssigkeit einfach zwischen Deckglas und Objektträger brächte. R. Koch hat den hängenden Tropfen eingeführt, der folgendermaßen angelegt wird:

Digitized by Google

Der hohle Ausschliff eines allenfalls leicht erwärmten Objektträgers wird mit Vaselin umgeben.

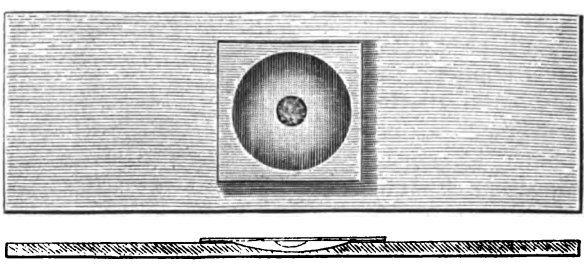
Ein reines Deckglas wird mit einer Cornetschen Pinzette gefaßt und diese auf eine schwarze Glasplatte mit dem Knopf nach oben gelegt.

Eine ausgeglühte und wieder erkaltete Platinöse von 2 oder 3 mm Dchm. überträgt ein Tröpfchen der keimhaltigen Flüssigkeit genau in die Mitte des Deckglases.

Sollen Kleinwesen von einer Kultur auf festem Nährboden oder eine Kahmhaut, eine zusammenhängende Masse von Bakterien (sogenannte Zooglöa) u. dergl. im lebenden Zustande untersucht werden, so kommt erst ein Tropfen Wasser, steriler physiologischer Kochsalzlösung, Bouillon oder Peptonwasser aufs Deckglas. Ein frisch geglühter Platindraht verteilt darin das Material in möglichst geringer Spur durch vorsichtige Verreibung, ohne den Tropfen wesentlich weiter auszubreiten.

Eine rasche, aber ruhige Umdrehung der Pinzette mit der Hand bringt die mit dem Tropfen versehene Deckglasseite nach unten.

Fig. 77.



So wird das Deckglas vorsichtig über den Ausschliff des Objektträgers gelegt; es muß mit seinen Rändern gleichmäßig in der Vaselinschicht liegen und kann mit der Pinzette noch leicht eingedrückt werden.

Nun befindet sich der keimhaltige Tropfen, vollkommen abgeschlossen von der Außenwelt, zwischen dem Objektträger, den er nicht berührt, und dem Deckglas, an dem er hängt, in einer kleinen Kammer, deren Luft durch das verdunstende Wasser bis zum Taupunkt mit Feuchtigkeit gesättigt ist. Abkühlung des Deckglases von außen bedingt einen Niederschlag feinsten Taues in der Umgebung des Tropfens. Diese Tautröpfchen können bei der mikroskopischen Einstellung als Anhaltspunkte dienen.

Dabei kümmere man sich zunächst gar nicht um die aufzufindenden Bakterien, sondern suche erst nach dem Rande des Tropfens. Bei mangelnder Sicherheit versäume man nie, zuvörderst mit schwacher Vergrößerung bei enger Blende den Tropfen zu besichtigen und einen Abschnitt seiner Randbegrenzung genau in die Mitte des Gesichtsfeldes zu bringen. Alsdann wird das Trockensystem mit der Oelimmersion vertauscht und die Blendenöffnung unter dem Kondensor auf $^1/_3$ des Gesichtsfeldes (s. S. 7 u. 8) erweitert. Nach erfolgter Einstellung (S. 10) muß der Rand des Tropfens wieder durch die Mitte des Gesichtsfeldes verlaufen; auf der einen Seite der gebogenen Linie er-

Digitized by Google

scheinen dann allenfalls die kleinen, rundlichen, farblosen, aber dunkel gesäumten Tautröpfchen, während die andere Hälfte von der Flüssigkeit eingenommen ist. Nun erst wendet man das Augenmerk auf die darin befindlichen Kleinwesen, die sich, falls sie beweglich sind, in buntem Gewimmel tummeln. Zur weiteren Durchmusterung wird das Präparat derart verschoben, daß immer der Rand sichtbar bleibt und nach und nach die ganze Randzone des Tröpfchens zu Gesicht kommt. Nachher geht man mehr nach der Mitte zu, wo der Tropfen tiefer ist und deshalb eine ergiebigere Drehung der Mikrometerschraube für die Einstellung verlangt.

Da das Wasser in dem wohlgeschlossenen kleinen Raum nicht weiter zu verdunsten vermag, so bleibt der hängende Tropfen wochenlang untersuchungsfähig. Er kann im Brutschrank des geheizten Mikroskops zur Beobachtung der Entwicklung und Sporenbildung der Kleinwesen, wie überhaupt zu mancherlei Untersuchungen mit Vorteil verwendet werden.

Hat man eine Anzahl hängender Tropfen angelegt und dem Brutschranke übergeben, so kann man sie, wenn eine in Zwischenpausen vorgenommene Untersuchung besonders hübsche oder lehrreiche Bilder gibt, leicht fixieren, wenn man das Deckglas vorsichtig abhebt und den Tropfen im Exsikkator oder unter gelinder Erwärmung im Trockenschranke rasch verdunsten läßt. Nach Entfernung des Vaselinringes mit Chloroform folgt Fixierung in der Flamme, Färbung und Einschluß in Kanadabalsam.

G. Lindner empfiehlt für gewisse Untersuchungen die Anlegung mehrerer kleinster Tröpfchen bereits geimpfter Kulturflüssigkeit auf einem Deckglase. Er nimmt kleine Zeichenfedern, die an einem Holzstiel befestigt, an alkoholfeuchter Watte abgeputzt und in der Flamme abgebrannt werden. Die Feder wird in die zu untersuchende Flüssigkeit getaucht, das Zuviel vorsichtig an der inneren Reagenzglaswand abgestrichen, dann werden reihenweise kleinste Tröpfchen aufs Deckglas aufgetragen. Man muß dabei rasch arbeiten, um Verdunstung zu verhüten; zweckmäßig wird der Objektträger vorher kalt gestellt und kurz vor der Auflegung des Deckglases angehaucht oder momentan über eine Flamme gebracht, um die nötige Feuchtigkeit im geschlossenen Hohlraum zu erzielen. Zur Verhinderung des Ineinanderlaufens der Tropfen oder Tröpfchen wird die Oberfläche des Glases vor der Sterilisierung mit einem winzigen Fettüberzug versehen (C. II. r. 5. 200). In den kleinen Tröpfchen hat man oft nur einen Keim und kann wegen der Seichtheit der Flüssigkeit die Auskeimung unterm Mikroskop gut verfolgen (Jahrber. 10. 669).

Die färberische Untersuchung.

Farbstoffe und Farbstofflösungen.

Zur Färbung der Bakterien eignen sich weitaus am besten die Lösungen von kernfärbenden basischen Anilinfarben. Mit P. Ehrlich unterscheiden wir für histologische Zwecke zwischen basischen und sauern Anilinfarben, ferner an einem einzelnen Farbstoff einen zentralen Farbbildungskern oder Chromophor und an ihm freie salzbildende haptophore Seitenketten.

Ein Farbstoff ist basisch, wenn er entweder die Amidogruppe allein oder in Verbindung mit Hydroxylen am basischen Chromophor oder in Verbindung mit Karboxylen am basischen Chromophor führt und letztere in der Minorität sind.

Digitized by Google

Ein Farbstoff ist sauer, wenn er die Nitro- oder Sulfogruppe enthält, wenn er die Karboxylgruppe im Verein mit der Hydroxylgruppe oder die Karboxylgruppe (zugleich mit Amidogruppen) an saurem Chromophor führt, schließlich wenn er allein die Oxygruppe ohne sonstige Gruppen besitzt*).

Zu den basischen Farbstoffen, die sämtlich in Alkohol löslich sind, gehören unter anderen: Methylenblau, Methylgrün, Malachitgrün (als Chlorzinkdoppelsalz im Handel), Viktoriablau, Kresylviolett, Gentianaviolett (im Handel mit Dextrin „gestellt"), Fuchsin, Vesuvin, Auramin u. s. w., zu den sauern: Eosin, Erythrosin, Fluorescein, Aurantia, Säurefuchsin, Säureviolett u. v. a.

Die für unsere Zwecke am meisten gebrauchten Anilinfarbstoffe sind Methylenblau, Gentianaviolett, Fuchsin und Bismarckbraun. Man verwendet sie entweder in 2proz. wäßrigen Lösungen, die unmittelbar oder verdünnt zu Färbungen zu gebrauchen sind, oder als wäßrig-alkoholische Lösungen; dazu stellt man eine sogenannte konzentrierte alkoholische Lösung von etwa 5% Farbstoffgehalt her, die sich lange aufbewahren läßt und bei Gebrauch mit etwa der 4fachen oder einer größeren Menge Wassers verdünnt wird.

Bei der Wägung dürfen die Farbstoffkristalle nicht mit der Wagschale in Berührung kommen; deshalb legt man auf jede ein gleichgroß geschnittenes Blatt Papier, wovon das eine zum Tarieren des anderen gehört.

Die abgewogene Menge schüttet man vom Papier entweder in eine gut verschließbare Flasche, übergießt sie mit der nötigen Menge Wasser oder Spiritus und schüttelt gründlich durch, oder man gibt sie erst in eine Reibschale und gießt die erforderliche Menge Flüssigkeit ratenweise in kleinen Mengen darüber, indem man mit dem Pistill verreibt und dann in die Vorratsflasche abgießt, so daß mit der letzten Portion die letzten Farbstoffreste eingespült werden. Reibschale, Pistill und Flasche müssen dabei auf mehrfachen Lagen Papier stehen, damit der Tisch durch die unvermeidlich ablaufenden Tropfen nicht besudelt wird. Farbstofflecke (auch von den Händen) beseitigt man durch Abwischen erst mit 20proz. Schwefelsäure, dann mit etwa 60proz. Spiritus, wozu zwei Schalen mit den nötigen Wattebäuschen bereit stehen.

Die Vorratslösungen bleiben über den am Grunde liegenden ungelösten Farbstoffresten ruhig stehen und werden beim Gebrauch vorsichtig abgegossen. Man kann sie vorher filtrieren, aber davon absehen, wenn man genügend lange Zeit hat vergehen lassen, bis sich der Niederschlag abgesetzt hat, und wenn man beim Herausnehmen einzelner Portionen, z. B. durch Verwendung einer Pipette, dafür gesorgt hat, daß der Bodensatz nicht aufgewirbelt wird.

Die jedesmalige Wahl des Farbstoffs hängt von dem Präparate, oft nur von persönlicher Vorliebe ab.

Methylenblau gewährt den Vorteil der auswählenden Färbung von Bakterien und Zellkernen und läßt den Untergrund zurücktreten. Die mit Methylenblau gefärbten Bakterien sehen nicht so groß wie die mit Gentiana oder Fuchsin behandelten aus, weil nur das Ento-

*) Aus A. Pappenheim, Grundriß der Farbchemie zum Gebrauch bei mikroskopischen Arbeiten. Berlin bei A. Hirschwald, 1901.

Digitized by Google

plasma zur Darstellung kommt, das übrige aber ungefärbt bleibt. Methylenblau eignet sich in starker Verdünnung besonders gut zur sogenannten Minimalfärbung; Näheres darüber s. im Kapitel über die Einzelheiten im Bakterienleib. Von den Präparaten des Handels gibt man jetzt vielfach dem Methylenblau medicinale Höchst den Vorzug.

Eine Steigerung der färbenden Kraft wird durch Alkalizusatz erreicht. R. Koch hat ihn zuerst angegeben und 0,5 ccm konzentrierter alkoholischer Lösung mit 100 ccm einer Kalilauge 1 : 10000 versetzt. F. Loeffler vermehrte später die Farbmenge auf 30 ccm.

Die Herstellung der vielgebrauchten, der Kürze halber Loefflers Blau oder Basisch Blau*) bezeichneten Mischung ist zwar einfach, erfordert jedoch einige Aufmerksamkeit: Das verwendete destillierte Wasser muß vollkommen neutral sein: jedenfalls koche man es vorher aus. Zu 560 ccm solchen Wassers wird 1 ccm Normalkalilauge gesetzt, dann hat man eine Lösung 1 : 10000. Weniger sicher ist es, die Lösung mit abgewogenen Stücken Aetzkali herzustellen, weil Kaliumhydrat nur schwer unverändert aufzubewahren ist, selbst wenn man, was immer geschehen muß, den Stopfen der Vorratsflasche mit Paraffin gedichtet oder eine mit Chlorcalcium gefüllte Absorptionsröhre durch ihn geführt hat. Will man die Lösung mit Natronlauge bereiten, nimmt man von der Normallösung ebenfalls 1 ccm auf 560 ccm neutralen destillierten Wassers. Würde man aber Aetznatron nehmen, so müßte man, um äquimolekulare Mengen zu bekommen, eine Lösung von 0,7 g in 10000 ccm neutralen destillierten Wassers ansetzen.

Die alkalischen Methylenblaulösungen haben, besonders wenn sie erwärmt oder einige Zeit stehen gelassen worden sind, die Eigenschaft der Metachromasie und Rotstichigkeit, d. h. gewisse Anteile der Zellen, z. B. der Mastzellen, oder der Mikroorganismen, färben sich dunkelblauschwarz, andere, nämlich das sogenannte Chromatin, rot, wieder andere, speziell Schleimsubstanzen, rosa oder violettrosa. Nocht bezeichnete die das Chromatin (Zettnow) rotfärbende Substanz als „Rot aus Methylenblau". Ueber das Vorhandensein des roten Anteils in der Lösung kann man sich Aufschluß verschaffen, wenn man eine verdünnte Methylenblaulösung im Reagenzglas mit etwas Chloroform (oder Aether) schüttelt. Gegebenen Falls wird das sich wieder ausscheidende Chloroform (bezw. der Aether) rot gefärbt sein (Nocht, C. 25. 764).

Auch durch Zusatz von Eosin entsteht eine Verbindung mit Methylenblau, die neben der reinen Eosinfärbung die Rotfärbung aus Methylenblau gibt.

R. May und L. Grünwald haben für Blutfärbungen eine derartige Farbstoffverbindung angegeben (C. f. inn. Med. 02. 265), die von O. Spiegel (C. 40. 430) für bakteriologische Zwecke empfohlen wird.

---

*) In diesem Ausdruck bezieht sich „basisch" auf die Lösung, nicht auf den Farbstoff selbst. Zur Unterscheidung heißt dann die mit Kalilauge bereitete Lösung Kaliblau, die mit Natronlauge hergestellte Natronblau.

Digitized by Google

Wasserlösliches, gelbes Eosin 1,0 wird in 1 l destillierten Wassers gelöst.

Methylenblau medicinale 1,0 desgleichen.

Beide Lösungen werden zusammengegossen.

Nach einigen Tagen wird mit Hilfe der Saugpumpe abfiltriert und der Rückstand mit kaltem destilliertem Wasser so lange ausgewaschen, bis das Filtrat fast ungefärbt bleibt.

Vom Rückstand wird eine gesättigte Lösung in Methylalkohol hergestellt (0,25 g Farbstoff in 100 ccm Methylalkohol).

Diese Lösung ist haltbar, mit ihr wird gefärbt, und zwar brauchen die Präparate wegen der Anwesenheit von Methylalkohol vorher nicht fixiert zu werden, sie sollen nur gut lufttrocken sein. Die Färbung währt gewöhnlich 2 Minuten, sie kann aber bei schwerer färbbaren Dingen auch 24 Stunden dauern.

Danach wird mit neutralem destilliertem Wasser, dem einige Tropfen der Farblösung zugesetzt sind, abgespült (es wird im Standglase ausgeschwenkt).

Der pulverförmige Farbstoff oder die Lösung in Methylalkohol sind von Dr. Schwalm, München, Sonnenstraße 10, fertig zu beziehen.

Zur Erzielung der Romanowskyfärbung bei Blutpräparaten hat R. May später (MmW. 06. 356) empfohlen, die auf die eben genannte Weise gefärbten und in wenigstens zwei Waschwässern gewaschenen Präparate, ohne die Schichtseite zu trocknen, mit einem Tropfen einer ½proz. Lösung von Azur I (Grübler) zu behandeln, wobei die blauen Kernfärbungen abblassen und in dem charakteristischen roten Ton auftreten; dies kann unter dem Mikroskop verfolgt werden, da der Vorgang etwa 2 bis 4 Minuten dauert. Wenn der gewünschte Farbenton erreicht ist, wird getrocknet; vorher braucht nicht mit Wasser gespült zu werden. Kerne und Granula werden leuchtend rot, ebenso die Lymphozytengranula, das Protoplasma der Lymphozyten bläulich, rote Blutkörperchen mehr oder weniger grünlich, Mastzellengranula sind an ihrem glänzend rot-violetten Ton erkennbar.

Methylenazur ist nach L. Michaelis der wesentlichste Bestandteil alkalisch gemachter Methylenblaulösungen, auf ihm beruht die große Färbekraft, die metachromatische Eigenschaft gegenüber Mastzellen und die Reaktion auf Chromatin, die man besonders bei der Färbung der Malariaparasiten nach D. L. Romanowsky haben will (C. 29. 763).

Gleichzeitige Anwesenheit von Methylenblau im Ueberschuß oder von Gentianaviolett, die in den durch Alkalien zersetzten Methylenblaulösungen immer statthat, beeinträchtigt die Chromatinfärbung. G. Giemsa, der diese Tatsache festgestellt hat, bemühte sich, das Methylenazur rein darzustellen, und erreichte das in seinem sogenannten Azur I und II.

Azur I (pur.) ist reines Methylenazurchlorhydrat; Azur II, der für Blutfärbung am meisten geeignete Farbstoff, ist Methylenazurchlorhydrat pur. + Methylenblau medic. Höchst $\overline{aa}$ (C. 32. 310). Eine Vereinigung von Azur II mit Azur II-Eosin gelöst in Glyzerin und Methylalkohol ist unter dem Namen „Giemsalösung für die Romanowskyfärbung“ ebenso wie jeder einzelne Bestandteil bei Dr. G. Grübler & Co., Leipzig, zu beziehen; ihre Anwendung s. bei Malaria; ihre Herstellung ist folgende (C. 37. 308):

Azur II-Eosin 3,0 g und Azur II 0,8 g werden im Exsikkator über Schwefelsäure gut getrocknet, aufs feinste gepulvert, durch ein feinmaschiges seidenes Sieb gerieben und in Glyzerin 250,0 g (Merck, chemisch rein) bei 60° unter Umschütteln gelöst; hierauf wird Methylalkohol I (Kahlbaum) 250,0 g, der vorher auf 60° erwärmt worden

Digitized by Google

ist, hinzugefügt, gut geschüttelt, 24 Stunden bei Zimmerwärme stehen gelassen und filtriert.

Die Giemsalösung für die Romanowskyfärbung wird zum Gebrauch in ein Tropffläschchen gefüllt, das vorher mit absolutem Alkohol ausgespült und stets verschlossen gehalten werden soll.

Gentianaviolett ist ein gesättigt färbender Stoff, der sich auch sehr gut zur Verwendung in stärkeren Verdünnungen eignet, wenn man bei kräftiger Färbung der Mikroorganismen noch Einzelheiten in ihnen zur Darstellung bringen und den Untergrund möglichst zurücktreten lassen will; man nehme dazu von der 2proz. wäßrigen Lösung zwei Tropfen auf 10 ccm destillierten Wassers, gebe einige Tropfen auf einen Objektträger und lege das Deckglaspräparat nach vorheriger Fixierung darauf. Die Färbung läßt sich dann in ihrem Fortgang bequem unter dem Mikroskop verfolgen und, wenn sie gut scheint, durch Abnehmen des Deckglases und Trocknung unterbrechen; sie wird durch vorsichtige Erwärmung beschleunigt: wenn man den Objektträger bloß einige Sekunden über das kleine Flämmchen eines Sparbrenners hält, ohne es zu berühren, und nicht wärmer werden läßt, als daß man das Glas noch auf dem Handrücken leiden kann, ja wenn man das 3mal in der Flamme fixierte Deckgläschen in noch warmem Zustande auf die Farbflüssigkeit legt, ohne es weiter zu erwärmen, ist die Färbung in 2 bis 5 bis 10 Minuten, oft schon früher beendigt. Wenn es weniger auf Feinheiten als auf rasche Färbung ankommt, genügt eine kurze Einwirkung der 2proz. wäßrigen Lösung. Auch der Gentianalösung kommen metachromatische Eigenschaften zu; Schleimsubstanzen färben sich mit ihr rotviolett.

Eine Steigerung der färbenden Kraft erzielt man durch Zusatz von Anilinöl oder Phenol.

Das Anilinölwassergentianaviolett ist nach Ehrlich früher für die Tuberkelbazillen- und dann namentlich bei der Gramschen Färbung angewendet worden. Da es aber fast immer frisch bereitet werden muß und das Anilinöl, noch mehr das Anilinölwasser nur sehr begrenzt haltbar ist, da man dagegen in dem unbegrenzt haltbaren Karbolgentiana einen vollkommenen Ersatz hat, ist man mehr und mehr von seiner Verwendung abgekommen. Seine Bereitung ist folgende:

In ein Reagenzglas wird bis zur halben Höhe Wasser gegeben, dazu so viel Anilin(öl), daß der Grund des Röhrchens ausgefüllt ist. Je heller das Oel, desto besser. Nachdem etwa 1 Minute lang geschüttelt worden ist, läßt man die trübe Emulsion 5 Minuten stehen und gießt sie dann auf ein vorher mit destilliertem Wasser angefeuchtetes Filter. Sobald das Anilinwasser völlig klar durchfiltriert ist, wird der Trichter weggenommen, damit nicht Oeltropfen nachfiltrieren. In Vorrat ist das Anilinwasser nicht zu halten, es scheidet allmählich Oeltröpfchen aus, die sehr störend wirken.

Zu je 100 ccm dieses Anilinölwassers werden 11 ccm konzentrierte alkoholische Farbstofflösung gesetzt. Oder man träufelt von der konzentrierten Lösung so lange ins Anilinwasser, bis auf der Oberfläche ein irisierendes Häutchen entsteht. Die fertige Farblösung wird filtriert.

Karbolgentianalösung nach E. Fraenkel (DmW. 85. 576):

Konz. alkohol. Gentianaviolettlösung	10 Teile
2½proz. Phenollösung	90 „

Formalingentianalösung empfahl W. Raebiger speziell

Digitized by Google

für Milzbrandbazillenfärbung; sie soll sich auch für andere Bakterien eignen, nach E. Marx noch besser, wenn man sie noch weiter mit Formalin verdünnt. Die ursprüngliche Vorschrift lautet: 100 bis 150 g Formalin werden auf 15 bis 20 g Gentianaviolettpulver gegossen, kräftig verrührt und einige Stunden oder über Nacht stehen gelassen. Die kalt gesättigte Lösung wird filtriert, was sehr langsam vor sich geht. Raebiger färbte die mit Formalin fixierten Präparate 20 Sekunden, Schmidt hält eine Einwirkung von 4 bis 5 Minuten für die beste, auch für Rauschbrand- und Rotlaufbazillen (Hdb. d. path. Mikroorg. 2. 11).

Eine besondere Eigenschaft des Gentianaviolettes ist seine Verbindung mit Jod, insoferne als diese eine Anzahl von Bakterien alkoholbeständig färbt, während das bei anderen nicht der Fall ist. Darauf gründet sich die Gramsche Methode.

Fuchsin färbt kräftig und wird nicht minder häufig in der wäßrigen oder wäßrig-alkoholischen Lösung angewendet als die vorhin genannten Farbstoffe, es eignet sich auch zur Anwendung von sehr verdünnten Lösungen. Es ist der empfehlenswerteste Farbstoff für die Darstellung der Spirillen, insbesondere der Choleravibrionen und mancher Stäbchen, wie der Schweinerotlauf- und verwandter Bazillen, wenn man nicht vorzieht, sie nach Gram zu färben. Ganz allgemein wird das Fuchsin in phenolhaltiger Lösung verwendet und zwar insbesondere zur Tuberkelbazillenfärbung. Die Vorschrift für die Karbolfuchsinlösung nach Ziehl-Neelsen lautet:

Fuchsin	1,0
Alkohol	10,0
Acid. carbol. liquefact.	5,5
Aqu. dest.	84,5

Karbolglyzerinfuchsin nach E. Czaplewski gibt weniger Niederschläge: 1,0 g Fuchsin wird in einer geräumigen Reibschale mit 5 ccm Acid. carbol. liquefact. gut verrieben. Nachdem die Kristalle zu einer dunkelroten Flüssigkeit gelöst sind, werden dazu unter beständiger Verreibung allmählich 50 ccm chemisch reinen Glyzerins gesetzt. Nach erfolgter Mischung wird die Lösung mit 100 ccm Aqu. dest. verdünnt (HR. 96. 1035).

Die genannten Mischungen bleiben erst 24 Stunden stehen, sind dann jederzeit zu verwenden und monatelang haltbar.

Die Ziehlsche Lösung ist für die meisten anderen Zwecke in ihrem Karbolgehalt zu stark. Blut- und Gewebsausstriche bekommen infolge der Schrumpfung ein eigentümlich großwabiges Aussehen, das bei der Aufsuchung der Bakterien stört. Auch in den Bakterienleibern machen sich Schrumpfungserscheinungen bemerkbar, erkenntlich an teilweisen Zurückziehungen des Plasmas und Auftreten von Lücken, die entweder in der Mitte oder an den Polen oder buchtenartig am Rande sitzen, während der gefärbte Rest einen dunkel-, fast schwarzroten Farbenton zeigt.

Diese Unzuträglichkeiten kann man durch geeignete Verdünnungen vermeiden; bei der Färbung auf Tuberkelbazillen u. ä. darf jedoch nicht verdünnt werden, auch für Schweinerotlaufbazillen nimmt man besser unverdünntes Karbolfuchsin. Für alle anderen Bakterienfärbungen ist eine Verdünnung von 1 Teil Karbolfuchsin mit 2 Teilen Wassers

Digitized by Google

geeignet; sie färbt rasch und kräftig und macht nicht so ausgesprochene Schrumpfungserscheinungen. Ganz spurlos geht aber auch eine solche Verdünnung nicht an den Bakterien vorüber; für schonendere Färbungen, bei denen man noch den Einfluß des Phenols zur Steigerung der Färbekraft haben will, nimmt man Verdünnungen bis zum 10-, ja bis zum 20fachen, z. B. für die Darstellung der Influenzabazillen nach R. Pfeiffer; man muß dann länger färben, 5 bis 10 Minuten und mehr. Will man jede Beeinträchtigung des Plasmas der Bakterien tunlichst vermeiden, dann darf man keine phenol-, ja selbst keine alkoholhaltigen Lösungen, sondern nur wäßrige nehmen.

Herstellung gefärbter Ausstrichpräparate.

1. Ausstreichung der zu untersuchenden Masse, erforderlichen Falls nach Verreibung mit einer Spur Wasser, auf dem gereinigten Deckglas oder Objektträger in möglichst dünner Schicht.
2. Vollkommen lufttrocken werden lassen, allenfalls unter ganz leichter Erwärmung.
3. Dreimal durch die Flamme ziehen zur Fixierung.
4. Färbung.
5. Wasserspülung.
6. Trocknen mit Filtrierpapier (Deckgläser nur an der präparatfreien Seite).
7. Deckglas mit dem an der Präparatseite haftenden Wassertropfen auf einen reinen Objektträger legen.
8. Untersuchung mit Oelimmersion, bei Deckgläsern allenfalls vorher noch mit stärkerem Trockensystem.
9. Wenn für die Aufbewahrung brauchbar, Entfernung des Wassers vom Deckglas oder des Oels vom Objektträger.
10. Nach vorheriger Trocknung in sehr gelinder Wärme Einbettung in Xylol-Kanadabalsam.
11. Bezeichnung des Präparats durch Nennung des Objekts, der Färbung und des Datums nach Tag, Monat und Jahr.

Erläuterungen zu den einzelnen Punkten:

1. Objektträger oder Deckgläser? Objektträger, von A. Neißer dazu eingeführt (ZfH. 4. 174), sind billiger, weniger zerbrechlich und leichter zu handhaben; sie ermöglichen eine Reihe von Präparaten rasch nacheinander auszustreichen und zu färben, da 3 bis 4 Ausstriche bequem auf einem Objektträger Platz finden. Wenn man den Oeltropfen auf die S. 22 angegebene Weise abgenommen hat, läßt sich das Präparat auch noch nach einiger Zeit um- und nachfärben. Sie haben dagegen den Nachteil, daß sie zwar für die Betrachtung mit der Oelimmersion gebraucht werden können, nicht dagegen mit einem stärkeren Trockensystem, das auf die Verwendung von Deckgläsern korrigiert ist. Bei der öfteren Benutzung leiden die Präparate allmählich durch die wiederholte Abtupfung des Oeltropfens, auch gelingt die staubsichere Aufbewahrung kaum. Dagegen hilft Ueberdeckung mit Kanadabalsam und Deckglas, wodurch der Gang der Lichtstrahlen nicht merklich beeinträchtigt wird.

Der Ausstrich wird gemacht, indem man ein klein wenig von

Digitized by Google

der Bakterienmasse mit einem Platindraht oder einer kleinen Oese aufs Glas bringt und alsbald zu einer dünnen Schicht ausbreitet. Dies gelingt am besten, wenn man den Platindraht mit einer ganz leichten, flachen Krümmung versehen hat und nun mit der konvexen Seite einen etwa 10 mm langen Ausstrich macht, möglichst mit einem Zuge.

Gewöhnlich verteilt man die Bakterien vorher in sehr wenig Wasser, in nur etwa so viel als in einer 1 mm-Oese Platz hat; darin läßt man die von einem festen Nährboden abgenommene Masse einige Augenblicke quellen und streicht dann aus. In jedem Falle vermeide man das Hin- und Herfahren, wodurch die Bakterien zu sehr auseinandergerissen werden. Legt man mehrere Ausstriche auf einem Objektträger an, dann unterscheidet man diese gleich von vornherein dadurch, daß man dem Ausstrich die Form eines Buchstabens oder einer Nummer gibt. Nicht mit Wasser verdünnte Kulturen in Bouillon-, Peptonwasser oder eiweißhaltigen Lösungen lassen nach der Färbung mehr oder weniger Niederschläge erkennen. Sie erscheinen am intensivsten und deshalb am meisten störend bei der Färbung mit Karbolfuchsin, etwas weniger bei Gentianaviolett und am wenigsten bei Methylenblau oder bei der Behandlung nach Gram.

Sekrete, Organteile und -säfte müssen besonders vorsichtig ausgestrichen werden. Die häufig unter dem Mikroskop zu sehenden kometenschweifartigen Gebilde in Gewebszellen-, besonders leukozytenreichen Präparaten rühren von Kreuz- und Querstrichen her; es sind nichts anderes als ausgestrichene Zellkerne. Ein solches Beispiel s. Taf. VIII, Fig. 50.

Wenig empfehlenswert ist es, das Material zwischen zwei Deckgläsern zu zerdrücken und diese dann voneinander abzuziehen. Es bleiben oft die meisten Teilchen am Rande sitzen und die Finger können leicht infiziert werden; oder der Ausstrich wird streifig und enthält bald dünnere bald dickere Lagen. Wer diese Methode zu einem bestimmten Zwecke wählt, bedient sich dabei mit Vorteil der Ehrlichschen Pinzetten ohne Riffelung der Faßarme (s. S. 17); bei gewöhnlichen brechen die Deckgläser leicht.

2. Die Trocknung läßt man gehörig an der Luft erfolgen; sie wird durch mäßige Erwärmung beschleunigt: man hält das Präparat mit der Schichtseite nach oben über die kaum 1 cm hohe Sparflamme eines Bunsenbrenners und zwar in einer Entfernung von 3 bis 5 cm darüber, so daß die Flamme unmöglich das Gläschen berühren kann; es darf nicht heiß werden und man muß es noch auf dem Handrücken leiden können. Dadurch wird das Präparat für die Fixierung vorbereitet. Das empfiehlt sich namentlich für Ausstriche von schwerer am Glase haftenden eiweiß- oder schleimarmen Flüssigkeiten. Manche Untersucher pflegen die Präparate, namentlich wenn es sich um Flüssigkeiten handelt, mit einem Gebläse trocken zu blasen, wobei gleichzeitig die Flüssigkeit zu dünner Schichte verteilt wird.

3. Die Fixierung soll die Schichte am Glase festigen und das Eiweiß zur Vermeidung störender Niederschläge bei der Färbung „homogenisieren". Man zieht die in einer Pinzette mit der Präparatseite nach oben gehaltenen Gläser 3mal durch die Flamme. Die Erhitzung darf nicht zu weit getrieben werden; bei einer Temperatur von 220° verbrennen die Bakterien und schon bei 170° werden sie

Digitized by Google

sichtlich geschädigt (G. Gabritschewsky, C. 31. 813). Die entsprechende Erhitzung wird erreicht, wenn man beim Durchziehen durch die Flamme mit dem Präparat einen senkrechten Kreis von etwa 30 cm Dchm. 3mal beschreibt. Dabei wirkt die Hitze durchaus nicht so weit, daß die Bakterien und insbesondere die Sporen getötet werden. Darum enthält das Spülwasser der gefärbten Präparate vielfach noch lebende Keime, namentlich wenn sie in dicken Schichten, wie z. B. bei Klatschpräparaten (s. daselbst), am Glase hafteten, oder gar wenn Sporen dabei sind.

Für manche Objekte ist die Erhitzung nicht zweckmäßig, so insbesondere nicht für Blutpräparate, die auf tierische Mikroorganismen, wie Malariaparasiten u. a. untersucht werden sollen, oder für die Zwecke der Darstellung gewisser Feinheiten im Bakterienleibe, wie der Polfärbung z. B. bei den Pest- oder den Hühnercholerabazillen. In solchen Fällen legt man die Präparate für 15 bis 25 Minuten in absoluten oder wenigstens in etwa 95proz. Alkohol oder für wenige Minuten in Methylalkohol (s. S. 42, Abs. 6 und bei Malaria) oder man taucht sie in eine Mischung von Aether und Spiritus zu gleichen Teilen und wartet, bis die Deckgläser durch Verdunstung trocken geworden sind.

4. Die Färbung mit einer der bekannten Anilinfarblösungen geschieht durch Aufträufelung des Farbstoffes, ohne daß die Pipette das Präparat berührt. In der Regel reicht eine Färbungsdauer von 5 bis 30 Sekunden hin; sind die Gläser von der Fixierung her noch etwas warm, so genügen etwa 5 Sekunden. Ueber Anwendung sehr verdünnter Farblösungen s. S. 41 und 43.

5. Die Spülung nach der Färbung kann für gewöhnlich mit Leitungswasser erfolgen. Das Ablaufwasser soll, wie bereits S. 19 f. erwähnt, nicht in einen Ausguß nach der Kanalisation gegeben oder sonst sorglos verzettelt werden, vielmehr fängt man es in einer Emailschale auf, die nach Beendigung der Arbeit im Dampf sterilisiert werden muß. Den Wasserstrahl läßt man auf das schwach geneigte Präparat so auftreffen, daß die Schichte möglichst geschont wird; man leitet ihn auch auf die Rückseite. Zur Erkennung der Schichtseite dient eine Markierung an der Pinzette; sollte man die richtige Seite verlieren, kann man sie bei nicht zu zarten Ausstrichen durch einige Ritzversuche mit einer Nadel wiederfinden.

Hat man überfärbt, was sehr leicht bei Verwendung von Karbolfuchsin, auch verdünntem, geschieht, dann ist eine Verbesserung dadurch möglich, daß man, während der Wasserstrahl darüber geleitet wird, für einen Augenblick einen oder wenige Tropfen Alkohol mit einfließen läßt.

6. und 7. Die Trocknung von Deckgläsern erfolgt, wenn man erst eine orientierende Untersuchung behufs allenfalls nachheriger Verbesserung der Färbung machen will, dadurch, daß man das Deckglas bloß mit seiner Rückseite auf einige Lagen Fließpapier legt und auf die noch nasse Präparatseite einen Objektträger deckt, mit dem dann das Deckglas abgehoben wird. Soll das Präparat, wie es bei Objektträgern sogleich und bei Deckgläsern vor der Einbettung in Balsam zu geschehen hat, ganz getrocknet werden, so legt man es zwischen mehrere Lagen Filtrierpapier und drückt diese durch sanftes Drüber-

Digitized by Google

streichen mit den Fingern an. Damit die Haut nicht durch allenfalls durchfiltrierende keimhaltige Flüssigkeit besudelt und infiziert wird, legt man oben auf das Fließpapier einen Karton (Postkarte oder dergl.) stets mit derselben Seite nach oben; die gebrauchten Papiere werden von Zeit zu Zeit verbrannt.

8. und 9. Objektträger werden dann mit so viel Tröpfchen Oel versehen, als Präparate auf ihnen ausgestrichen sind, und die Oelimmersion ohne zwischengelegtes Deckglas eingetaucht.

Deckgläser werden mit einer Pinzette gefaßt, nochmals in einiger Entfernung über einer kleinen Sparflamme exakt getrocknet, wobei die Schichtseite stets nach oben zu sehen hat, und schließlich mit einem Tröpfchen Kanadabalsam eingebettet.

10. Die Einbettung mit Immersionsöl zu machen empfiehlt sich nicht, weil dieses wahrscheinlich infolge Säuregehaltes die Färbung bald schädigt; am besten ist guter Kanadabalsam, der möglichst säurefrei und in Xylol gelöst sein muß.

Kanadabalsam wird am einfachsten in Tuben, ähnlich wie die Malerfarben, bezogen (von Grübler in Leipzig). Zur Vermeidung von Versudelung fasse man die Tube niemals anders als am hintersten Ende an und halte sie, wenn das Deckelchen abgeschraubt ist, nach abwärts, dann fließt nicht zu viel Balsam aus.

Selbstherstellung des Xylolbalsam. Nach einer Vorschrift in der Enzyklopädie der mikroskopischen Technik und Färbelehre soll man den käuflichen Balsam mit etwas Kaliumkarbonat versetzen und auf dem Sandbade so lange erhitzen, bis er beim Erkalten eine glasharte spröde Masse bildet. Dann wird in Xylol bis zur Sirupdicke gelöst und nach Belieben mit Xylol weiter verdünnt. E. Zettnow sieht von dem Zusatz von Kaliumkarbonat ab und dampft das von J. D. Riedel (Berlin) bezogene Balsam. canadense depurat. soweit ein, bis ein herausgenommener Probetropfen glashart spröde wird.

Doppelt und mehrfach gefärbte Präparate.

Ausstrich- und Schnittpräparate werden entweder zur kontrastreicheren Darstellung der Mikroorganismen im Gewebe gegenüber den Zellen und ihren Kernen oder zur Differenzierung säure- oder säurealkoholfester Bakterien gegenüber gewöhnlichen oder behufs Differenzierung der Bakterien untereinander mit einer oder mehreren Farblösungen gefärbt und mit Differenzierungsmitteln behandelt.

Zur Färbung des Gewebes in Schnitten und insbesondere im Stück werden anstatt Anilinfarben auch die in der histologischen Technik gebräuchlichen Farben verwendet; viele Vorschriften findet man z. B. im Taschenbuch der mikroskopischen Technik von A. Böhm und A. Oppel (München bei R. Oldenbourg). Hier seien erwähnt:

Alaun-Cochenille. 8,0 pulv. Cochenille (Merck) und 5,0 Alaun werden mit 100,0 destilliertem Wasser vermengt; die Lösung auf $^2/_3$ eingekocht, nach dem Erkalten filtriert und einige Stückchen Thymol zugesetzt.

Hämalaun nach Paul Mayer. Eine Lösung von 1,0 Haemateinum crystallisatum (Hämatein-Ammoniak) in 50 ccm 90proz. Alkohol, unter Erwärmung im Wasserbade hergestellt, wird in eine Alaunlösung von 50 g in 1 l Wasser (nicht über 50° warm) eingetragen, die Mischung nach dem Erkalten filtriert und mit Thymol versetzt.

Digitized by Google

Pikrokarmin nach C. Weigert. 2 g Karmin bester Sorte werden mit 4 ccm Ammoniak gut gemischt und vor Verdunstung geschützt 24 bis 48 Stunden stehen gelassen. Dann werden 200 g konzentrierte wäßrige Pikrinsäure zugegeben und abermals 24 Stunden stehen gelassen. Nun setzt man langsam 10proz. Essigsäure zu, bis die Lackfarbe eben einen Schimmer von Deckfarbe erhält, wartet nochmals 24 Stunden und filtriert. Geht der feine Niederschlag durch das Filter, so setze man Spuren von Ammoniak zu, wodurch der Niederschlag gelöst wird. Die Farbmischung löst Eiweiß ab.

Das Gramsche Verfahren.

Die Eigentümlichkeit besteht darin, daß mit Gentianaviolett gefärbte Bakterien mit einer Jodjodkaliumlösung behandelt werden. Dadurch entsteht eine Verbindung von Jod mit Gentiana (im folgenden mit JG bezeichnet), die von den verschiedenen Bakterien verschieden festgehalten wird, wenn eine nachträgliche Spülung mit Alkohol folgt. Die einen behalten die tiefblauviolette Färbung nach der Einwirkung von Alkohol = JG +, die anderen lassen sie im Alkohol fahren = JG —. Dazwischen kommen Uebergänge vor, die entweder den ganzen Bakterienleib oder nur einzelne seiner Teile betreffen. So behalten gewisse Bakterien nur im Jugendzustand die Färbung, wenn die Alkoholbehandlung nicht überhaupt zu weit getrieben wird; bei anderen bleiben nur einzelne Abschnitte oder Körnchen gefärbt, wie z. B. bei den Diphtheriebazillen. Solche Fälle sind als JG $\pm$ oder JG $\mp$ zu bezeichnen, je nachdem das eine oder das andere vorherrscht. Bei nicht allzusehr alkoholempfindlichen mit JG gefärbten Bakterien kann man durch eine schonendere Entfärbung, wie sie C. Weigert mit Anilinöl oder mit Anilinölxylol (2 : 1) ausgeführt hat, noch positiv gefärbte Bakterien bekommen.

Nach der Alkoholspülung wendet man zumeist noch eine kontrastierende Gegenfärbung an, etwa mit Bismarckbraun, Safranin, Fuchsin oder (nur für Gewebszellen) mit Karmin, Pikrokarmin, Eosin u. dergl.

Wenn JG + ist, dient diese Gegenfärbung dazu, die dunkelblauvioletten Bakterien deutlich vom Untergrund oder vom Gewebe abzuheben; wenn JG — ist, werden die vom Alkohol entfärbten Bakterien durch sie sichtbar gemacht.

Ausstrichpräparate. 1. Fixierung in der Flamme.

2. Färbung mit Karbolgentianaviolett 1 bis 3 Minuten lang. Man kann dabei leicht erwärmen.

3. Jodierung mit Jodjodkaliumlösung 1 bis 3 Minuten.

4. Entfärbung mit Alkohol, bis keine blauen Wolken mehr abgehen.

5. Nachfärbung mit Bismarckbraun 5 bis 30 Sekunden.

6. Wasserspülung, Trocknung, Untersuchung.

Erläuterung zu den einzelnen Punkten:

1. Der Ausstrich kann auf Deckgläsern oder auf Objektträgern gemacht werden. Beide müssen bei der nachfolgenden Behandlung

Digitized by Google

nach Nr. 2, 3 und 5 mit den betreffenden Flüssigkeiten in ihrer ganzen Ausdehnung bedeckt sein. Objektträger werden zweckmäßig auf mein Färbegestell (S. 18) gelegt, wo sie bis zum Schluß liegen bleiben können; es ist nur nötig, den Rahmen zum jedesmaligen Ablaufenlassen der Flüssigkeit leicht nach der Seite zu neigen.

2. Karbolgentianaviolettlösung (s. S. 43) ist der ursprünglich von Gram (kalt) angewendeten Anilinölwassergentianaviolettlösung (S. 43) vorzuziehen. Wenn das Präparatglas in seiner ganzen Ausdehnung damit bedeckt ist, führt man eine Flamme so lange darunter hin und her, bis Dämpfe aufzusteigen beginnen; kochen darf die Lösung nicht. Nach 1 bis 3 Minuten wird der Farbstoff abgegossen.

3. Für die Jodjodkaliumlösung lautete die Gramsche Vorschrift: Jod 1,0, Jodkalium 2,0, destilliertes Wasser 300,0. Nicolle wendete später eine etwas konzentriertere Lösung an, indem er die Wassermenge auf 200 ccm einschränkte. Noch weiter herunterzugehen, ist nicht rätlich, weil dadurch veränderte Bedingungen geschaffen werden. E. Neide fand, daß die doppelte Konzentration (1 : 2 : 150) bei einem sonst nicht JG-beständigen Bazillus die Alkoholfestigkeit des Bakterienleibs wesentlich vermehrt hatte (C. 35. 508).

Die Lösung wird so hergestellt, daß man die Kristalle von Jod und Jodkalium zunächst in nur wenigen, etwa 5 ccm destillierten Wassers zur Lösung bringt (bei größerer Wassermenge gelingt das nicht), und erst wenn diese erfolgt ist, die übrigen 295 oder 195 ccm hinzufügt. Die Lösung verliert bei längerer Aufbewahrung an Wirksamkeit.

4. Nach Gram soll absoluter Alkohol genommen werden. Bequemer arbeitet man mit dem gewöhnlichen Spiritus (90- bis 91proz. Alkohol), ohne daß dieser den Ausfall der Färbung beeinträchtigt. Es ist dabei darauf hinzuweisen, daß Alkohol bis zu einem gewissen Grade umso besser wirkt, je verdünnter er ist (ähnlich wie auch die Desinfektionswirkung beim absoluten Alkohol ganz gering ist und bis zum etwa 50proz. Alkohol stufenweise steigt, was mit der Dissoziierung zusammenhängt). Somit wird also der 91proz. Alkohol stärker als der nahezu absolute entfärben.

Die Präparate können in ein Gefäß mit Alkohol getaucht werden, oder, was sparsamer ist, man träufelt den Spiritus aus einer Patenttropfflasche (Fig. 37) auf das schräg gehaltene oder gelegte Präparat, bis er eben farblos abtropft. Bei einfachen Ausstrichen ist die Entfärbung nach Ablauf von 20 bis 30 Sekunden genügend vorgeschritten; man merke die aufgewendete Zeit, um bei einem folgenden Ausstrich derselben Art allenfalls eine Verbesserung eintreten lassen zu können.

M. Weinrich (C. 24. 258) legt besonderes Gewicht auf die Verwendung absoluten Alkohols speziell bei der färberischen Darstellung der Gonokokken, die in der Gegenfarbe erscheinen sollen und daher die Farbe gut abgegeben haben müssen. Indessen kann ich über Mißerfolge mit Spiritus nicht klagen. Außerdem weist W. nachdrücklichst auf die Notwendigkeit hin, daß die Anwendung von Wasser zur Spülung während des ganzen Gramschen Verfahrens strengstens vermieden werde. Hauptsächlich kommt es dabei auf die Vermeidung der Spülung nach der Jodierung an, aber auch die Abspülung über-

Digitized by Google

flüssigen Farbstoffs nach der Färbung wird man besser statt mit Wasser gleich mit Jodlösung besorgen. Nach der Behandlung mit Alkohol wird sich gegen eine Spülung ein Bedenken weniger erheben lassen, wenn sie jemand anwenden will, um die Diffusionsströmungen mit der nachher aufzugebenden wäßrigen Farblösung zu vermeiden.

Bei der Fibrinfärbungsmethode nach C. Weigert werden die jodierten Schnitte durch Abtupfen mit Fließpapier möglichst getrocknet und so lange mit mehrfach gewechseltem Anilinxylol (2 : 1) behandelt, bis sie durchsichtig geworden sind. Das Anilinxylol wird mit Xylol sorgfältig entfernt; hierauf folgt Einschluß in Balsam.

E. Czaplewski setzt dem Anilinxylol noch 1,5 % Aceton zu, um reinere Bilder zu bekommen; bei schwierigeren Entfärbungen unterstützt er die Wirkung des Anilinxylols durch vorsichtiges Zutropfen von 1 Tropfen Alkohol.

5. Zur Nachfärbung eignet sich eine 2proz. wäßrige Lösung von Bismarckbraun oder Vesuvin. Weinrich stellt sie noch konzentrierter her: Destilliertes Wasser 70,0 werden erhitzt, Bismarckbraun 3,0 und 96proz. Alkohol 30,0 zugesetzt, umgerührt und filtriert; er läßt 2 bis 3 Minuten wirken.

Nicht zu konzentrierte und nicht zu lange einwirkende Lösung hat bei Ausstrichen von Reinkulturen auch JG-positiver Bakterien den Vorteil, daß allenfalls mit übertragene Teilchen vom Kondenswasser des Agar, von Bouillon u. s. w. von den anhaftenden violetten Farbstoffresten befreit werden und höchstens eine kaum merkliche gelbe Farbe annehmen; man erreicht also mit Bismarckbraun eine größere Reinheit des Untergrundes. Gewebszellen und deren Kerne werden ebenfalls nicht vordringlich mit diesem Farbstoff gefärbt.

Wenn es sich dagegen um Sichtbarmachung von JG-negativen Bakterien allein oder in einem Bakteriengemisch handelt, dann nimmt man gerne einen etwas kräftiger wirkenden Farbstoff, wie Safranin (die 3proz. Lösung noch mit weiterem Wasser beliebig verdünnt, was auch erst auf dem Objektträger geschehen kann, indem man in das auf ihm stehende Wasser einige Tropfen der Farblösung gibt) oder die 1 : 10 verdünnte Karbolfuchsinlösung.

Modifikation von Ch. Nicolle (AP. 95. 664):

1. Fixierung in Aetheralkohol (gleiche Teile).

2. Färbung mit Karbolgentiana (s. S. 54) 4 bis 6 Sekunden. Keine Wasserspülung.

3. Jodierung mit der Lösung 1 : 2 : 200 (s. S. 50) 4 bis 6 Sekunden. Diese Lösung 1- bis 2mal erneuern.

4. Entfärbung mit Alkoholaceton (absoluter Alkohol mit 1/3 Aceton).

Nachfärbung mit wäßrig-alkoholischer Fuchsinlösung (oder mit Eosinlösung, wenn keine anderen Bakterien zu färben sind).

Schnittpräparate. Chr. Gram hat die gefärbten und jodierten Schnitte entweder mit absolutem Alkohol oder mit 3proz. Lösungen von Salz- oder Salpetersäure in Alkohol behandelt, letzteres um die Zellkerne rasch zu entfärben. Nach der Säurewirkung vertrugen aber die blau gebliebenen Bakterien die Nachfärbung mit Bismarckbraun

Digitized by Google

nicht mehr, sie wurden hellbraun (FdM. 84. 185). Später hat C. Günther den Vorteil der kurzen Behandlung mit 3proz. Salzsäurealkohol hervorgehoben (DmW. 87. 474). Die Gegenfärbung der Zellkerne wird durch Karmin erzielt, das man zweckmäßigerweise gleich zu Anfang vor der Bakterienfärbung einwirken läßt.

Gram-Günthersches Verfahren: Vorherige Behandlung mit Pikrokarminlösung (Stückfärbung s. unten).

Anilinölwassergentianaviolett 1 bis 2 Minuten. Abtupfen der überschüssigen Farblösung auf Filtrierpapier.

Jodjodkaliumlösung 2 Minuten.

Alkohol ½ Minute.

3proz. Salzsäurealkohol genau 10 Sekunden.

Sofort in reinen Alkohol übertragen für mehrere Minuten.

Wiederholte Uebertragung in frischen Alkohol bis zur maximalsten Entfärbung (es darf keine Farbwolke mehr weggehen), Xylol u. s. w.

Schnitte aus Zelloidineinbettung können in Alkohol infolge Lösung des Zelloidins leiden; dagegen empfahl C. Kisskalt Propylalkohol, der allerdings bedeutend langsamer entfärbt. Die Reihenfolge der Entfärbung ist bei den verschiedenen Alkoholen: Methyl-, Aethyl-, Propyl-, Butyl-, Amylalkohol. Methylalkohol entfärbte auch bei einigen Bakterien, bei denen sonst JG + ist; Amylalkohol dagegen gestattete noch die Darstellung von Typhus- und Kolibakterien; Proteus vulgaris, Pyocyaneus und Vibrionen wurden in jedem Alkohol entfärbt (C. 30. 281).

Mit Glyzerineiweiß aufgeklebte Schnitte werden durch die Einwirkung von Pikrokarmin abgelöst; um dies zu vermeiden, setzte Nicolle ⅛ 95proz. Alkohol zur Karminlösung.

Färbung im Stück. Die in Formalin und Alkohol steigender Stärke gehärteten Organstücke kommen in 4 % wäßriges Alaunkarmin oder in wäßrige Cochenillelösung, bleiben darin 24 Stunden bei 35° liegen und werden dann wieder in Alkohol steigender Stärke übertragen.

Modifikation von Nicolle (dreifache Färbung):

Entfernung des Paraffins mit Xylol und des Xylols mit absolutem Alkohol.

Karminalkohollösung 15 Minuten. Wasserspülung.

Karbolgentiana 4 bis 6 Sekunden.

Jodjodkalium (1 : 2 : 200) 4 bis 6 Sekunden. 1- bis 2mal erneuern.

Entfärbung in Alkohol mit ⅓ Aceton.

Rasche Uebertragung in Pikrinsäurealkohol (es wird so viel Pikrinsäure zugesetzt, daß eine sehr blasse grünlichgelbe Färbung des Alkohols entsteht).

Entwässern mit absolutem Alkohol, Xylol, Balsam.

Einen **Ersatz des Gramschen Verfahrens** durch eine einzeitige Färbung hat Claudius im Pikrinsäuremethylviolett angegeben. Eine wäßrige Lösung von Pikrinsäure zu einer wäßrigen Lösung von Methylviolett gefügt, gibt einen Niederschlag von Indigoblau. Auch diese Substanz geht mit der Leibessubstanz gewisser Bakterien eine Verbindung ein, die in Chloroform oder Nelkenöl nicht löslich ist, während die nicht an die Leibessubstanz von Bakterien ge-

Digitized by Google

bundene Substanz in Alkohol, Chloroform, Anilin- und Nelkenöl sehr löslich und nur in Wasser unlöslich ist (AP. 97. 332).

Die erforderlichen Lösungen sind:

1proz. wäßrige Lösung von Methylviolett 6 B extra (Merck).

Ferner: Gesättigte wäßrige Pikrinsäurelösung verdünnt mit gleichen Teilen destillierten Wassers.

Deckglaspräparate werden getrocknet, durch die Flamme gezogen und dann behandelt mit:

Methylviolett 1 Min.; Wasserspülung; Trocknung zw. Filtrierpapier

Pikrinsäure 1 „ „ „ „ „

Chloroform bis zur Entfärbung; die Präparate bleiben dabei in einer geschlossenen Flasche.

Schnittpräparate sollen möglichst dünn sein; Aufklebung mit Eiweiß.

Vorfärbung mit Lithionkarmin.

Methylviolett 2 Min.; Wasserspülung; Trocknung zw. Filtrierpapier

Pikrinsäure 2 „ „ „ „ „

letztere sorgfältig und mehrmals wiederholen.

Einen Tropfen Nelkenöl darauffallen lassen; wenn er dunkelblau ist, Abtupfen mit Fließpapier und dies wiederholen bis zur Entfärbung. Xylol. Balsam.

Es bleiben dabei alle Mikroorganismen gefärbt, die bei der Gramschen Behandlung gefärbt bleiben, außerdem noch Rauschbrand-, maligne Oedembazillen und Bac. necrosis Bang.

G. Dreyer behandelte die Präparate nach dieser und gleichzeitig nach der van Giesonschen Methode (C. 27. 534):

Wäßriges Methylviolett (etwa 1%) oder Gentianaviolett 3 bis 5 Minuten (bei Tuberkelbazillen und ähnlichen, sowie bei pathogenen Hefen ½ bis 1 Stunde).

Abspülung mit destilliertem Wasser.

Konzentrierte wäßrige Pikrinsäurelösung 3 bis 4 Minuten.

Sorgfältiges Abdrücken mit Filtrierpapier.

Anilinöl mit Zusatz von 1promill. Pikrinsäure, bis der Schnitt graugelb ist und keine violette Farbe mehr abgibt.

Sorgfältige Abspülung mit destilliertem Wasser so lange, bis der Schnitt das Wasser nicht scheut.

Delafields Hämatoxylin 5 bis 8 Minuten.

Sorgfältige Abspülung mit destilliertem Wasser, etwa 5 Minuten.

Essigsaures Pikrinsäurefuchsin (etwa 2 bis 3 ccm Pikrinsäurefuchsin mit 1 Tropfen 1proz. Essigsäure) 3 bis 5 Minuten.

Abspülung und Entwässerung in absolutem Alkohol nicht länger als ½ bis 1 Minute. Xylol. Balsam.

Für **Bakterien, bei denen JG — ist**, kann jede gewöhnliche Färbung gewählt werden. Auf Schnitte läßt man die Farbe etwas länger einwirken und entfärbt dann in Wasser und aufsteigendem Alkohol, allenfalls nach vorgängiger Eintauchung in 0,5proz. Essigsäure für einige Sekunden (Weigert). Von besonderen Verfahren seien genannt:

a) Saathoffs Modifikation der Methylgrünpyroninmethode von

Digitized by Google

A. Pappenheim mit ½ % Phenol als Beize nach Unna für elektive einzeitige Färbung der Bakterien (DmW. 05. 2047).

Farblösung: Methylgrün 0,15; Pyronin 0,5; 96proz. Alkohol 5,0; Glyzerin 20,0; 2proz. Karbolwasser 75,0; Filtrieren.

Ausstrichpräparate werden 1 bis 2 Minuten gefärbt, dann mit Wasser gespült und ohne Filtrierpapier getrocknet. (Für Schweinerotlaufbazillen, Gonokokken, Meningokokken vom Autor sehr geeignet befunden.)

Schnitte bleiben 2 bis 4 Minuten in der Farblösung, bei schwer färbbaren Bakterien länger, z. B. bei Rotzbazillen bis 12 Stunden. Eintauchen in einen Farbtrog ist besser als Aufträufelung der Lösung.

Abspülen in Leitungswasser so lange, bis die grünliche Färbung in eine blaurötliche übergeht. Dann oberflächlich abtrocknen.

Abspülen in absolutem Alkohol wenige Sekunden. Wenn nach mehrmaligem Hin- und Herschwenken keine deutlichen roten Farbwolken mehr abgegeben werden, in Xylol und Balsam.

Bei Zelloidinschnitten, die möglichst dünn sein sollen, ist eine vorherige Entfernung des Zelloidins nicht zweckmäßig; die Differenzierung dauert bei ihnen meist länger als bei Paraffinschnitten.

b) Nach Nicolle AP. 95. 668: Lösungen:

Karbolthioninlösung:	Gesättigte alkoholische Lösung von Thionin (Merck)	10 ccm
	1proz. Phenollösung	100 „
Karbolgentiana:	Gesättigte alkoholische Gentianalösung	10 „
	1proz. Phenollösung	100 „
Alkoholische Eosinlösung 1 : 3:	Gesättigte alkoholische Eosinlösung . . .	50 „
	95proz. Alkohol . .	100 „

Acetonalkoholmischung 1 : 3.

Deckglasausstriche von Kulturen: Färbung mit Karbolgentiana.
„ „ Geweben: Karbolthionin 1 bis 2 Minuten,
„ „ Blut: Doppelfärbung mit alkoholischer Eosinlösung 10 Sekunden, sowie mit Karbolthionin 15 Sekunden;
„ „ Pneumokokken und -bazillen: Karbolgentiana 4 bis 6 Sekunden, rasch in Alkoholaceton 1 : 3.

Schnitte werden nur mit Thionin gefärbt:

Entfernung des Paraffins mit Xylol, des Xylols mit absolutem Alkohol.

Karbolthioninlösung ½ bis 1 Minute. Wasserspülung.

Entwässerung mit absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

c) C. Zieler wendete die von V. Pranter für die Färbung der elastischen Fasern modifizierte Orceinmethode von Unna-Taenzer zur Darstellung schwer färbbarer Bakterien in Schnitten an, insbesondere der Rotzbazillen, ferner von Typhusbazillen, Gonokokken u. s. w. und erzielte dabei außer einer dunkelblauen oder rötlich-violetten Färbung der Bakterien eine gute Darstellung der Kerne und Protoplasmastrukturen neben der Färbung der elastischen Fasern auf reinem Grunde

Digitized by Google

(C. f. allg. Pathol. 14. 561). Zur Färbung wurde polychromes Methylenblau nach Unna genommen. Die vorher anzuwendende Orceinlösung hat nach Pranter folgende Zusammensetzung:

Orcein D (Grübler in Leipzig) 0,1.
Salpetersäure des Arzneibuchs 2,0 (nach Gewicht, nicht Volum)
70proz. Alkohol 100,0 („ „ „ „)

Die Fixierung und Härtung der Schnitte ist beliebig; am besten erwies sich Formalin-Müller-Gemisch 1 : 9.

Paraffineinbettung; Aufklebung der Schnitte.

Bei Zelloidinschnitten muß das Zelloidin vorher entfernt werden.

Färbung in Pranters Orceinlösung 8 bis 24 Stunden (über Nacht).

Kurze Spülung in 70proz. Alkohol, um überschüssiges Orcein zu entfernen.

Wasserspülung.

Färbung in polychromem Methylenblau 10 bis 30 Minuten bis 2 Stunden.

Formolpräparate können 2 Stunden und länger darin bleiben.

Bei Alkohol- oder Sublimatfixierung darf die Farbe allerhöchstens 1 Stunde wirken. Destilliertes Wasser.

Gründliche Differenzierung im Glyzerinäthergemisch (Grübler); nicht zu starke Verdünnung, 1 : 2 bis 5 Wasser, besonders nach längerer Färbung. Die Schnitte bleiben so lange darin, bis keine Farbwolken mehr abgehen und bis sie hellblau erscheinen. Gründliche Spülung mit destilliertem Wasser.

70proz. Alkohol 5 bis 10 Minuten.

Alkohol absolut. so lange, bis keine erkennbaren Farbspuren mehr abgegeben werden. Xylol. Balsam.

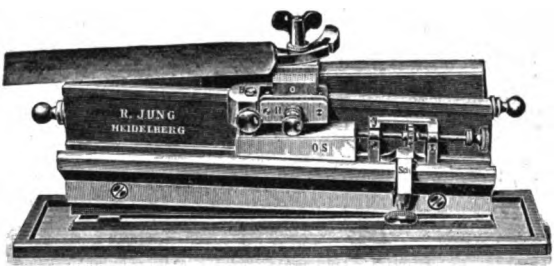
Die **Plasma-** oder **Mastzellen** (Ehrlich) seien an dieser Stelle erwähnt; man begegnet ihnen häufig im Bindegewebe und in Ausstrichen aus entzündetem und normalem Gewebe, einzeln oder über das Gesichtsfeld verstreut. Im Gegensatz zu den übrigen Zellen färbt sich bei ihnen der Kern oft nicht, wohl aber das Protoplasma, und zwar in Gestalt kleiner Pünktchen, die so sehr den Eindruck von Kokken machen, daß sie schon oft zu Täuschungen Anlaß gegeben haben. Die Täuschung wird noch vermehrt, wenn jene Körnchen nicht mehr in der Begrenzung der Zelle liegen, sondern beim Schneiden oder Ausstreichen über eine Strecke hin verstreut worden sind. Sie sind an dem ungleichmäßigen Korn und an der unterschiedlichen Begrenzung und Größe, insbesondere an ihrem metachromatischen Verhalten zu erkennen, denn sie nehmen mit Methylenblau, Thionin und ähnlichen azurhaltigen Farbstoffen, auch mit Gentianaviolett einen rötlichen Ton an. Für die Darstellung der Mastzellen des Blutes, die er als nicht identisch mit denen des Bindegewebes erklärt, empfiehlt L. Michaelis wegen der Wasserlöslichkeit ihrer Granula die Vermeidung von Wasser bei der Färbung und nur die Anwendung einer gesättigten Lösung von Thionin in 50proz. Alkohol, kurze Anspülung in 50proz. Alkohol und dann Trocknung (MmW. 02. 225).

Digitized by Google

Herstellung von Schnittpräparaten.

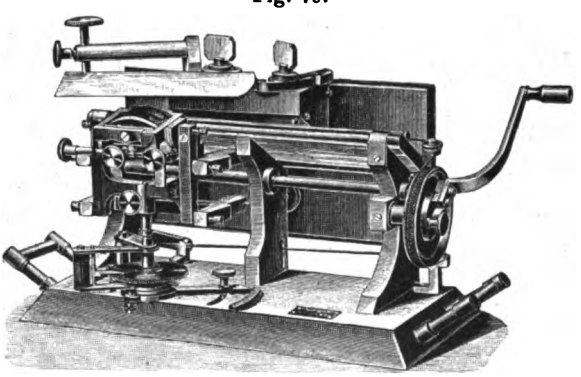
Mikrotome gibt es von etwa 27 bis 32 Mk. an bis zum Preise von einigen hundert Mark. Wer etwas mehr dafür anlegen kann, schaffe ein größeres Instrument an, das auch die feinsten Schnitte bis zu 1 μ herzustellen erlaubt, z. B. eines von R. Jung in Heidelberg

Fig. 78.



(Fig. 78) oder von Becker (F. Sartorius in Göttingen, Fig. 79), die mit allen Feinheiten der Schlittenführung versehen sind. Für kleinere Institute und selteneren Bedarf, wo es nur darauf ankommt, gewissermaßen Uebersichtsbilder über die Lage der Bakterien im Ge-

Fig. 79.



webe zu bekommen, reicht ein kleineres, schon ein sogenanntes Studentenmikrotom, z. B. das von R. Jung (Fig. 80) zum Preise von 32 bis 40 Mk., mit dem sich Schnitte bis herab zu 5 bis 10 μ Dicke herstellen lassen. Zu einem mittleren Mikrotom etwa zum Preise von 100 bis 150 Mk. würde ich für bakteriologische Zwecke weniger raten, denn dann kommt es schon auf 50 bis 100 Mk. mehr nicht an, um etwas Vollkommenes zu erwerben.

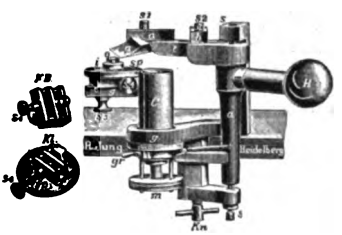
Die Messer sind von verschiedener Steilheit der Schneide, je nachdem sie für Zelloidin-, Paraffin- oder Gefrierschnitte bestimmt sind; für unsere Untersuchungen kommen hauptsächlich die beiden letzteren und davon am meisten die für Paraffin in Betracht. Sie sind peinlichst sauber zu halten und ganz trocken aufzubewahren. Hat die

Digitized by Google

Schneide gelitten, so läßt sie sich häufig durch längeres Abziehen auf einem guten Streichriemen wieder genügend in Stand setzen; das Abziehen auf Arkansasschleifstein dagegen ist schwierig und wird besser einem Fachmann überlassen. Der Streichriemen darf nur mit seiner Papphülse, höchstens noch mit einem Tuch beim Abwischen in Berührung kommen, insbesondere nie auf den Tisch oder sonstwohin gelegt werden; ein einziges anhängendes Körnchen kann die Schneide des Messers verderben. Die fehlerfreie Beschaffenheit der Schneide wird am besten unter dem Mikroskop geprüft; man legt es, durch Unterlagen beiderseitig unterstützt, auf den Objekttisch und betrachtet es mit einem schwachen Trockensystem, z. B. Leitz 1, indem man nach und nach die Schneide der ganzen Länge nach durch das Gesichtsfeld zieht.

Aethersprüher müssen den Aethernebel stets in dichtem Kegel geben, deshalb ist auf Trockenheit und Sauberkeit der kleinen Ausgangsöffnungen zu sehen und nach dem Gebrauch ein Silberdraht hindurchzustecken.

Fig. 80.



Die Schlittenbahn des Mikrotoms muß stets staubfrei gehalten und bei Metallteilen mit feinstem Maschinenöl bestrichen werden. Alle abfallenden Schnitte und Teile von ihnen müssen auf das genaueste nach Gebrauch weggenommen und abgewischt werden. Das Instrument soll immer wie neu aussehen!

Sonstige **Gebrauchsgegenstände** und **Chemikalien.**

Ein Paraffinschrank. Der einfachste, der auch zur Erstarrung von Blutserum dienen kann, ist S. 102, Fig. 105 abgebildet; vollkommenere sind oben noch mit einem kleinen Schränkchen versehen, das durch den unteren mit und so weit erwärmt wird, daß Paraffinschnitte ohne zu schmelzen längere Zeit darin verweilen können. Ein Thermoregulator, dessen Anwendung sehr zu empfehlen ist, muß für Temperaturen von 45 bis 70° eingestellt sein.

Gießformen für Paraffinklötzchen gibt es zu mehreren vereinigt; man kann auch mit einigen Winkeln aus Metall oder mit tiefen Uhrschälchen auskommen.

Präparatengläser zum Härten und zum Aufbewahren gehärteter Stücke, ferner kleinere Glaszylinder von etwa 100 mm Höhe und 40 mm im Lichten mit eingeriebenen Stopfen in größerer Anzahl; Schälchen und Abdampfschalen; spitze Marderpinsel zum Festhalten der Schnitte beim Schneiden und Ausbreiten; langhaarige, breite Pinsel zum Andrücken der Schnitte an die Objektträger.

Alkohol in 6 bis 8 verschiedenen Konzentrationen in Flaschen mit gut eingeriebenen Glasstopfen.

Absoluter Alkohol hält sich nicht lange absolut und wird vom Drogisten überhaupt nicht wasserfrei genug geliefert, denn er ist sehr hygroskopisch. Aufbewahrt wird er in einer Flasche, auf deren Boden

Digitized by Google

geglühtes (weißes) Kupfersulfat liegt; sobald dieses grünlich wird und zusammenbackt, ist es wieder auszuglühen. Wenn beim Zusammenbringen einiger Tropfen Alkohol und Xylol eine milchige Trübung entsteht, ist der Alkohol sicher nicht absolut.

Aceton wird außer zur Entfärbung (s. S. 51) zur Härtung, insbesondere zur Schnellhärtung mit gleichzeitiger Vorbereitung für die Paraffineinbettung benutzt. Sein Siedepunkt liegt bei 56 bis 58°. Es hat nach A. Fischer dieselben Fällungseigenschaften wie der Alkohol und fällt fast alle für mikroskopische Zwecke in Betracht kommenden Eiweißkörper. Das bei der Härtung gebrauchte Aceton muß ebenso wie Alkohol durch geglühtes Kupfersulfat wieder entwässert werden. Was sein Verhalten gegenüber Paraffin betrifft, so lösen 100 Teile Aceton zwar nur 0,7 Teile festen Paraffins vom Schmelzpunkt 56 bis 58° auf, aber 100 Teile Paraffin von diesem Schmelzpunkt nehmen 16 Teile Aceton auf. Das gelöste Aceton verdunstet bei dieser Temperatur nur langsam, dagegen bei stärkerer Erwärmung auf dem Wasserbade sehr schnell, binnen ½ Stunde vollständig (Beckstroem, C. f. path. Anat. 05. 5).

Formaldehyd in etwa 40proz. Lösung (= Formalin). Eine 10proz. Formalinlösung ist also eine 4proz. Lösung von Formaldehyd.

Chloroform. Xylol. Aether.

Paraffin kann für Arbeiten im Sommer einen etwas höheren, im Winter einen etwas tieferen Schmelzpunkt haben. Man benutzt als Ausgangsmaterial zwei Sorten, solches von 42 bis 44° und ein anderes von 62 bis 64° Schmelzpunkt und stellt durch geeignete Mischungen die gewünschten Härten her, im allgemeinen eine vom Schmelzpunkt 53 bis 55°. Die verschiedenen Sorten können von Grübler in Leipzig bezogen werden.

Eiweißglyzerin nach P. Mayer: Das Weiße von einigen Eiern ohne eine Spur von Eigelb wird geschlagen und durch Filtrierpapier filtriert, was mit Hilfe einer Saugpumpe etwas abgekürzt werden kann; die Filtration dauert einen oder mehrere Tage. Zum Schutze vor Zersetzung wird etwas Kampfer zugefügt, desgleichen zur fertigen Mischung, die aus gleichen Teilen filtrierten Hühnereiweißes und reinsten Glyzerins hergestellt wird.

Paraffinschnitte. Konservierung*): Organstücke, in Würfel von etwa 5 mm Seitenlänge geschnitten, werden für ungefähr 12 Stunden, bezw. bis sie ganz durchdrungen sind, in 10proz. Formalin = 4proz. Formaldehydlösung gelegt. Noch besser ist es, die gleich nach dem Tode entnommenen, noch lebenswarmen Stücke in eine körperwarme Lösung folgender Zusammensetzung zu legen: Formalin 5 bis 10 ccm; Müllersche Flüssigkeit 95 bis 90 ccm; Eisessig 1,5 ccm. Müllersche Flüssigkeit besteht (modifiziert) aus: Kal. bichrom. 25,0; Natr. sulfur. 10,0; Natr. chlorat. 5,0; Aq. dest. 1000,0. Jene Lösung muß bald durch Müller-Eisessig ersetzt werden, da sich infolge der Reduktionskraft des Formaldehyds Niederschläge bilden.

*) Bei der Ausarbeitung dieses Kapitels wurde ich von Herrn Professor Dr. A. Spuler durch fachkundige Ratschläge und Angaben in dankenswerter Weise unterstützt.

Digitized by Google

Dann wird in fließendem Wasser ausgewaschen; bei Formol nur kurze Zeit, wenn Müllersche Flüssigkeit dabei ist, bis zu 24 Stunden.

Hierauf folgt Uebertragung stufenweise in Alkohol aufsteigender Stärke. Man braucht dazu einige Gefäße, jene S. 57 genannten Glaszylinder mit eingeriebenen Stopfen, die eine Weite von etwa 40 mm und eine Höhe von 100 mm besitzen, und auf deren Boden sich Watte befindet, damit das Gewebstück allseitig von Flüssigkeit umgeben ist; nach Ablauf jeder unten genannten Frist wird der bisherige Alkohol ab- und neuer der nächst stärkeren Konzentration darüber gegossen; bei größeren Stücken müssen die angegebenen Zeiten verlängert werden. Zunächst braucht man einen Glaszylinder mit etwas Watte, auf die das Gewebstück zu liegen kommt; es wird entwässert mit:

Alkohol	15%	30%	50%	75%	85%	96%
durch . .	6	6	6	6	6	12 Stunden.

Für feinere histologische Untersuchungen geht man von 10 zu 10% mit Ueberschichten vor.

Will man eine Stückfärbung haben, bringt man die Schnitte nur bis zum 75proz. Alkohol, dann in Wasser und hierauf in die gewünschte Farbstofflösung, z. B. Alaunkarmin oder dergl. (s. S. 48 f.); darin bleiben sie bei 35° für 24 Stunden, werden danach gewaschen und in Alkohol auf Watte übertragen, nämlich in

Alkohol von	30%	50%	75%	85%	96%	abs. I	abs. II	abs. III
für Stunden:	6	6	6	6	12	12	12	12

Mit Alauncochenille gefärbte Stücke dürfen nur kurze Zeit gewaschen und müssen rasch bis zum 75proz. Alkohol durchgeführt werden.

Vom I. absoluten Alkohol an, bei sehr zarten Objekten von Anfang an, bedient man sich zur weiteren Uebertragung bis zum Paraffin einer Art von Sieb; es wird aus einem etwa 28 mm weiten und 50 bis 60 mm langen Glaszylinder, dessen eines Ende mit Gaze überbunden wird, hergestellt. Bei jedem Wechseln der Flüssigkeit wird das Sieb auf einigen Lagen Fließpapier abgetupft.

Die Fläschchen mit absolutem Alkohol enthalten am Boden eine Schicht geglühten Kupfersulfats und außerdem ein flaches Korkstückchen, das von dem eingestellten Sieb untergetaucht wird und verhüten soll, daß die Schnitte mit Kupfersulfat in Berührung kommen.

Nach dem III. Alkohol abs. wird das Sieb mit den Gewebstücken in einen gleichen Präparatenzylinder in Chloroformalkohol (1:1) gestellt und 3 bis 6 Stunden darin gelassen, hierauf in reines Chloroform übertragen. Nach einer Stunde werden dem Chloroform allmählich Paraffinstückchen zugesetzt; von nun ab wird die Lösung warm gehalten, etwa auf dem geheizten Brütschrank. Wenn sich weiter kein Paraffin mehr löst, im Paraffinschrank bei der Temperatur, bei der das zur Verwendung gekommene Paraffin eben noch schmilzt.

Hierauf übertragen in reines geschmolzenes Paraffin und darin ½ bis 2 Stunden liegen lassen.

Danach wechseln des Paraffins; 1- bis 2mal; die Stücke liegen vorteilhaft auf einem Drahtnetz 1 cm über dem Boden der Gefäße.

Nun werden warme Schälchen oder Formen hergerichtet, die zunächst mit Glyzerin oder Seife ausgepinselt werden. Dort hinein wird erst etwas Paraffin gegossen, dann das Sieb mit den Gewebstücken

Digitized by Google

aufgestellt, die Gaze nach Durchschneiden des haltenden Fadens unten weggezogen und nun jedes Stückchen mit warmen Nadeln zurechtgelegt, „orientiert".

Man läßt die die Stückchen ganz einschließenden Paraffinklötzchen über einer Kühlvorrichtung erstarren und kann sie bis zum Schneiden selbst jahrelang aufbewahren.

Zum Schneiden wird auf den Präparatenträger des Mikrotoms etwas Paraffin gebracht und der Paraffinblock darauf gelegt; dann führt man zwischen beiden rasch ein angewärmtes Messer durch und schmilzt so den Block auf der Unterlage fest an.

Wenn es nicht auf alles Material ankommt, stellt man zunächst eine ansehnliche glatte Schnittfläche her. Oft ist es beim Schneiden von Vorteil, daß man eine dünnste Schicht, einen Hauch Paraffin bereits auf dem Messer hat.

Die in beliebiger Dicke von nicht über 10 μ hergestellten Schnitte werden auf Objektträgern angeklebt. Dazu dient eine minimale Schicht Eiweißglyzerin; man gibt sehr wenig auf den Objektträger und verstreicht es mit der Fingerbeere, bis kaum eine Spur von Eiweiß vorhanden ist.

Auf einen solchen Objektträger kommen einige Tropfen destilliertes Wasser, darauf werden die Schnitte gebracht, die dann durch Erwärmung des Wassers auf 25 bis 30° gestreckt werden; gerollte Schnitte werden zuvor unter leichter Erwärmung des Objektträgers mit Nadeln und Pinsel ausgebreitet.

Nachdem sie sich gestreckt haben, werden sie orientiert, das überschüssige Wasser wird entfernt, allenfalls mit Fließpapier vorsichtig abgesaugt und bei 25 bis 30° etwa 3 Stunden lang getrocknet.

Nun werden die Präparate „aufgeschmolzen", d. h. vorsichtig über einer kleinen Flamme nicht über 60 bis 70° erwärmt.

Auflösung des Paraffins mit einigen Tropfen Xylol; wiederholen.

Dann einige Tropfen absoluten Alkohol daraufgeben;

„ „ „ 75proz. „ „

„ „ „ 50 „ „ „

Hierauf in Wasser, und zwar mit der Schichtseite nach unten.

Bakterienfärbung. Abspülen mit destilliertem Wasser.

Abspülen mit Alkohol aufsteigenden Grades; fürchtet man ein Ausziehen der Färbung, übertrage man sofort in absoluten Alkohol.

Einige Tropfen Xylol oder, wenn man besorgt, nicht ganz peinlich entwässert zu haben, Origanumöl, das nicht so empfindlich für Wasser wie Xylol ist und nicht so rasch verdunstet. Wenn der Alkohol nach einiger Zeit, allenfalls durch vorsichtiges Erwärmen entfernt ist, einbetten in Balsam.

Eine **Schnellhärtung** und **Schnelleinbettung** läßt sich nach F. Henke und E. Zeller mit Aceton (s. S. 58) erzielen. Die möglichst kleinen frischen Gewebstücke werden unmittelbar in reines, wasserfreies Aceton übertragen, das sich über geglühtem Kupfersulfat befindet, und dessen Menge etwa das 25fache des Volumens des Stückchens betragen soll. Die Zeitdauer richtet sich nach der Größe, bis zu 1 ccm Stück genügt eine Härtungsdauer von ½ bis 1½ Stunden. Mehrmaliges Wechseln des Acetons ist sicher vorteilhaft. Bei gelun-

Digitized by Google

gener Härtung muß der kleine Gewebswürfel die Konsistenz eines gut in absolutem Alkohol gehärteten Objektes haben.

Danach kommen die Stückchen direkt in flüssiges Paraffin von 52 bis 56° Schmelzpunkt in den Paraffinofen, wo ein Teil des Acetons unter Blasenbildung entweicht und das Paraffin in die Gewebe eindringen läßt. Je nach der Größe des Stückes bleiben die Objekte ebenfalls etwa ½ bis 1½ Stunden darin liegen.

Dann können sie nach den üblichen Verfahren weiter behandelt werden (C. f. path. Anat. 05. 3).

Dieses Verfahren fand W. Bohne zur Auffindung der Negrischen Körperchen in wutverdächtigen Fällen zur raschen Diagnose der Straßenwut beim Hunde sehr geeignet (ZfH. 52. 87). Die Färbung erfolgte nach Mann mit folgender Lösung:

1proz. wäßrige	Methylenblaulösung	35 ccm
1 „ „	Eosinlösung . . .	35 „
destilliertes	Wasser	100 „

Zur Abspülung wurde u. a. alkoholische Natriumhydratlösung verwendet: Auf 30 ccm absoluten Alkohols fünf Tropfen einer 1proz. Lösung von Natriumhydrat in absolutem Alkohol.

Aus der Mitte des Ammonshorns werden ½ bis ¾ mm dicke Scheiben herausgeschnitten und in 15 ccm reines Aceton gebracht.

Bei 37° bis zur Härtung darin liegen lassen, was etwa 30 bis 45 Minuten, bei stark in Fäulnis übergegangenen Gehirnen länger dauert.

In flüssiges Paraffin von etwa 55° übertragen und bei 60° für 1 bis 1¼ Stunden darin liegen lassen.

In der üblichen Weise zurechtmachen und Serienschnitte anlegen.

Die Schnittbänder mit kaltem Wasser, dem etwas Gummi arabicum-Lösung zugesetzt ist, auf den Objektträger bringen.

Auf dem Paraffinofen von 60° antrocknen (warmes Wasser soll nicht angewendet werden).

Entfernung des Paraffins.

Färbung nach Mann ½ bis 4 Minuten.

Kurzes Abspülen in Wasser.

Kurzes Abspülen in absolutem Alkohol.

In absolutem Alkohol mit Natriumhydrat 15 bis 20 Sekunden.

Abspülen in absolutem Alkohol.

Uebertragen der Schnitte in Wasser für eine Minute.

„ „ „ in Wasser, das mit etwas Essigsäure leicht angesäuert ist, für 1 bis 2 Minuten.

Schnell entwässern. Einbetten in Balsam.

Gefrierverfahren mit Anethol nach H. Kühne (C. 12. 28):

Das Anisöl muß bester Sorte und darf nicht zu alt sein; sein Erstarrungspunkt liegt etwas unter 26°; in der kühlen Jahreszeit muß es erst in warmem Wasser aufgetaut werden.

Damit werden die wie zur Paraffineinbettung vorbereiteten, d. h. in Alkohol gehärteten Organstücke durchtränkt; sie sollen nicht dicker als 2 bis 5 mm sein. Man befreit sie durch Abtupfen mit Fließpapier erst von Alkohol und legt sie dann in ein kleines Gefäß mit Anethol;

Digitized by Google

dieses wird über Nacht in den Brütschrank gestellt und zwar eingeschlossen in ein Präparatenglas, um etwaige Kulturen vor den Dämpfen zu schützen.

Die Objektplatte des Gefrierapparates wird mit Alkohol gereinigt und leicht erwärmt, damit das Anisöl nicht gleich bei der Berührung mit ihm erstarrt; nun legt man erst 2 bis 4 Scheibchen Filtrierpapier auf und dann das mit Anethol durchtränkte Organstückchen. Ein paar Hübe des Aethergebläses genügen, um Oel und Präparat in eine Eismasse zu verwandeln. Sollte sich der angefrorene Gewebsblock während des Schneidens einmal ablösen, dann schiebt man ihn auf einen Objektträger, reinigt die Objektplatte nochmals mit Alkohol, wärmt sie wieder leicht an, ebenso das weggenommene Stück, legt es mit der Fließpapierunterlage wieder auf die Platte und läßt von neuem anfrieren. Natürlich muß dann jedesmal eine neue Schnittfläche hergestellt werden.

Mit dem Gefrierverfahren ist es wesentlich schwieriger, Schnitte gleicher Dicke wie bei Paraffineinbettung zu gewinnen, weil die Objekte bei allmählich zunehmender Wärme eine Ausdehnung und bei der Einleitung des Gefrierens eine Zusammenziehung erfahren. Mißlich ist auch der Geruch des Anisöls und die Notwendigkeit, das Material alsbald zu schneiden, wenn es mit Oel durchtränkt ist.

Die fertigen Schnitte läßt man in einem Schälchen in warmem Anisöl auftauen; während dessen wird das Mikrotom und das Messer gereinigt und versorgt. Dann werden die Schnitte auf einen passenden Spatel gebracht und nach Abtupfung des Oels mit Fließpapier in Alkohol übertragen, der bis zur gänzlichen Entfernung des Anethols wiederholt gewechselt wird. Hierauf folgt die Färbung der Schnitte.

Das Frierenlassen in Wasser kann nur für frische Präparate in Frage kommen. Aber man muß sich hüten, infektiöses Material in frischem Zustande zu schneiden, weil die Desinfektion des Mikrotoms und der feingeschliffenen Messer Schwierigkeiten bereitet.

Die **Einbettung in Zelloidin** hat vor der in Paraffin für bakteriologische Zwecke keinen Vorteil, wohl aber den Nachteil, daß sie die Färbbarkeit der Mikroorganismen gefährdet, weil färbbare Fett- und Wachssubstanzen bei der mehrtägigen Behandlung mit Aetherspiritus zu sehr gelöst werden. Erfahrungsgemäß eignen sich Zelloidinschnitte nicht für die Tuberkelbazillenfärbung. In dieser Beziehung bewirkt die Einlegung in Anisöl gerade das Gegenteil, die Bakterien sind für die Färbung nicht geschädigt, während man auch dem bei der Paraffineinbettung erforderlichen lösenden Mittel, dem Chloroform, eine gewisse Beeinträchtigung nicht absprechen kann.

Die Züchtung.

Die Zahl der Bakterien, die allein durch die mikroskopische Untersuchung unter Zuhilfenahme der Färbung sicher bestimmt werden können, ist sehr gering. Außer den Tuberkel- und Leprabazillen vermögen wir kaum noch einige wenige Arten durch die Färbung von anderen

Digitized by Google

zu unterscheiden. Niemand aber wird in der Lage sein, aus dem mikroskopischen Präparate allein, ohne weitere Anhaltspunkte beispielsweise Typhusbazillen, Staphylococcus pyog. aureus u. s. w. zu erkennen. Eines der wichtigsten Dinge für die Diagnose ist die Kultur. Das makro- und mikroskopische Aussehen, wie es den verschiedenen Bakterienansiedlungen eigentümlich ist, spielt eine hervorragende Rolle.

Ein allgemein brauchbarer Nährboden harrt noch der Entdeckung. Die Nährböden, die wir zur Kultivierung der einen Bakterienart mit Vorteil anwenden, lassen uns bei anderen im Stich. Wir kennen aus gefärbten Präparaten eine Reihe von Kleinwesen, bei denen bisher jeder Versuch künstlicher Züchtung mißlang.

Zur Züchtung der Mikroorganismen verwenden wir am geeignetsten die Stoffe, auf oder in denen sie im freien Leben unseren Beobachtungen zufolge am besten fortkommen. Finden wir eine üppige Ansiedlung auf Kartoffeln oder sonst einem Medium pflanzlicher Herkunft, so werden wir immer gut tun, dasselbe als Nährmittel entweder in seinem natürlichen Zusammenhange oder im wäßrigen Auszug herzunehmen. Das gleiche gilt von tierischen Stoffen, Organteilen, Absonderungen des menschlichen oder tierischen Körpers (Fleischsaft, Blut, Blutserum, Harn, Milch u. dergl.).

Bei der künstlichen Züchtung fassen wir in erster Linie die Reinkultur bestimmter Arten unter Ausschluß anderer ins Auge. Solange man dabei vorwiegend Flüssigkeiten verwandte, gelang sie nur mit großen Schwierigkeiten und selten völlig einwandfrei. Obwohl Schröter schon im Jahre 1872 farbstoffbildende Bakterien getrennt auf Kartoffeln zur Entwicklung gebracht hatte, hat sich daran doch keine allgemeine Verwertung des Prinzips der Züchtung auf festen Nährböden geschlossen. Es wurde in seiner Bedeutung erst von R. Koch gewürdigt und durch die Einführung **fester** und gleichzeitig **durchsichtiger Nährböden** mit ebensoviel Scharfsinn wie Erfolg für die wissenschaftliche Forschung ausgenutzt.

Erzielung von Keimfreiheit.

Die Sterilisierung hat alle zur Züchtung dienenden Dinge vorher und nachher von lebenden entwicklungsfähigen Keimen vollständig zu befreien.

Trockene Gegenstände von Glas, Metall u. dergl., die mit Wattestopfen versehenen Reagenzröhrchen, Kolben, Kulturplatten, Schalen, Pipetten, mitunter auch Messer, Scheren, Pinzetten werden in einem Trockensterilisierungsschranke mit heißer Luft ½ Stunde bei mindestens 160° sterilisiert.

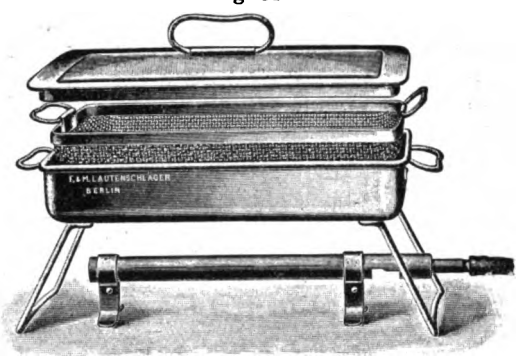
Chirurgische Instrumente werden in etwa 1¼proz. Sodalösung ausgekocht. Dazu dienen längliche Gefäße mit einem heraushebbaren Einsatz, massiv oder aus Draht, die so lang sein müssen, daß eine Mäusezange darin Platz hat. Geheizt werden sie mit vielen kleinen Flämmchen, die aus einem entsprechend langen Gasrohr brennen (Fig. 81) oder mit Petroleum, Spiritus oder Elektrizität.

Gefäße mit Flüssigkeiten werden dem strömenden Dampf ausgesetzt und zwar 20 bis 30 Minuten lang von dem Zeitpunkt an ge-

Digitized by Google

rechnet, wo der Dampf reichlich ausströmt. Größere Flüssigkeitsmengen von 1 l und darüber müssen wegen der verlängerten Anwärmungs-

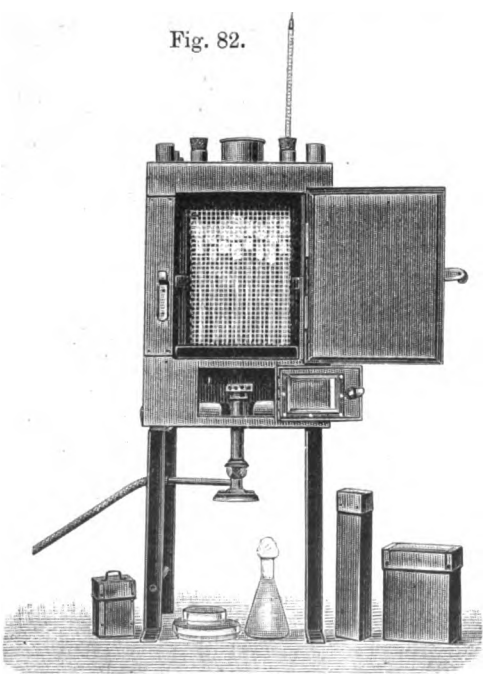
Fig. 81.



zeit mindestens doppelt so lange im Apparate bleiben (s. auch beim Kapitel Desinfektion).

Ein **Trockensterilisierungsschrank** ist ein doppelwandiger, mit Asbest bekleideter Kasten aus Metall mit Schornstein für die Abführung der Verbrennungsgase und Rohrstutzen zur Einführung von Thermometern; er wird mit Petroleum, Spiritus oder Elektrizität geheizt.

Fig. 82.



Für kleinere Laboratorien genügt eine Höhe, Breite und Tiefe von 30:23:20 cm, für etwas größeren Bedarf etwa 50:30:30 cm; bei dieser Höhe von 50 cm kann man auch Pipetten einstellen. Der Kasten kann entweder auf Füße gestellt (Fig. 82) oder an der Wand befestigt werden.

Wird ein größerer Schrank gewünscht, so wähle man einen mit Regenerativheizung. Diese Apparate sind dreifachwandig; in der äußeren Doppelwand g (Fig. 83) brennen aus einem ringsum gelegten Rohr viele kleine nichtleuchtende Flammen, denen von E aus Luft nach Art der Bunsenbrenner zugeführt wird; ihre Abgase entweichen aus dem Schornstein S. Durch die Erhitzung wird in der inneren Doppelwand f ein aufsteigender Luftstrom erzeugt, die erwärmte Luft tritt in der Pfeilrichtung in f durch die Decke in den Sterilisationsraum H

Digitized by Google

ein, durch den durchlochten Boden aus und wird zu den Flammen geleitet, die infolge des Zutrittes erhitzter Luft eine höhere Verbrennungstemperatur erhalten. Damit Wärmeunterschiede im Inneren des Apparates möglichst vermieden werden, ist mit der Heizung noch eine Bodenerwärmung durch zwei Heizrohre verbunden, die bei B und C vom Hauptrohr A abzweigen. Das Heizrohr hat einen Sicherheitszünder Z. Der Apparat ist für Massensterilisationen bestimmt, es finden darin große Kolben, Flaschen, Drahtkörbe u. s. w. gleichzeitig Platz. Thermoregulatoren sind für alle diese Apparate außer etwa für

Fig. 83.

die elektrisch geheizten unnötig. Bei einiger Aufmerksamkeit läßt sich die Hitze leicht durch Regulierung des Brennerhahns auf der gewünschten Höhe erhalten.

Reagenzgläser werden in verzinkten Drahtkörben, Pipetten, Platten, Messer, Scheren in Blechbüchsen von passender Form, andere Dinge, die nach der Sterilisierung ohnehin verschlossen bleiben, wie Petrischälchen, ohne weitere Umhüllung eingestellt. Unter 160° soll die Hitze während der halben Stunde nicht für längere Zeit sinken, wohl aber darf sie höher steigen; minderwertige Glaswaren leiden mit Erhöhung der Temperatur entsprechend mehr, sie werden rissig, rauh und undurchsichtig, bei gutem Material sind diese Nachteile nicht vorhanden.

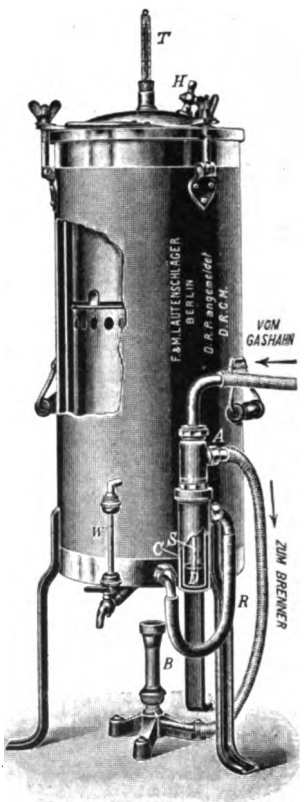
Dampftopf. Der einfachste Apparat zum Sterilisieren im strömenden Dampf ist der von R. Koch angegebene. Ein zur Aufnahme des Wassers bestimmter Topf von Kupfer mit Wasserstandsrohr oder besser

Digitized by Google

mit Vorrichtung für ständigen Wasserzufluß verlängert sich zu einem Zylinder von etwa 50 cm Höhe und 25 cm Dchm., der mit schlechtem Wärmeleiter, wie Asbest oder Linoleum, umgeben ist. Bei mehr als 50 cm Höhe ist die Siedehitze an allen Punkten nur durch starke Feuerung zu erreichen. Der Zylinder ist mit einem leicht abnehmbaren konischen Deckel, dem sogenannten Helm, bedeckt. Ein Thermometer ist nicht nötig, denn der Beginn der Desinfektionszeit ist an

Fig. 84.

Fig. 85.



dem kräftigen Ausströmen des Dampfes zu erkennen. Der Dampftopf kann auch für Herdfeuerung benutzt oder mit Petroleum geheizt werden. Selbst bei Gas ist ein kräftiger Brenner nötig, dessen Wirkung durch Ummantelung des Untergestelles erhöht wird, oder ein entsprechend großer Kocher, wie er für Gasherde gebräuchlich ist; letzterer ist niedriger, was der Handlichkeit beim Einstellen der Gefäße in den doch immerhin hohen Topf zu statten kommt. Die Erreichung der Siedehitze an allen Stellen im Inneren ist noch sicherer, wenn das Wassergefäß des Topfes einen größeren Durchmesser als der Zylinder besitzt (Fig. 84). Da der Apparat reichlich Dampf in die Luft schickt, muß er unter einen Abzug gestellt werden.

Zu jedem Dampftopf sind zwei entsprechend große Einsätze mit Deckel und durchlochtem Boden erforderlich, die übereinander gestellt

Digitized by Google

werden, oder wenigstens ein solcher und außerdem ein Drahtkorb von gleichem Durchmesser.

Dampftopf mit Ueberdruck. Für die Desinfektion im großen ist reichsgesetzlich ein Ueberdruck von 0,15 Atmosphäre vorgeschrieben. Ein solcher könnte bei den im Laboratorium gebräuchlichen Apparaten der bisherigen Konstruktion nicht mit Sicherheit eingehalten werden, denn gewöhnliche Dampftöpfe erlauben überhaupt nicht, irgend einen Ueberdruck zu geben und die später zu beschreibenden Autoklaven, die wegen ihres massiveren Baues bedeutend teurer sind, gestatten zwar einen Ueberdruck von einer und selbst mehreren Atmosphären, aber die Einhaltung von Bruchteilen einer Atmosphäre über dem gewöhnlichen Dampfdruck ist mit den dazu gebräuchlichen Manometerregulatoren in genauer Weise nicht zu erzielen.

F. & M. Lautenschläger haben jetzt eine Vorrichtung analog den für Brutschränke gebräuchlichen Thermoregulatoren mit dem Dampfapparat durch ein U-förmiges Rohr in Verbindung gebracht, die ermöglicht, eine Temperatur zwischen 101 und 105° entsprechend einem Ueberdruck zwischen 0,05 und 0,25 Atmosphäre beliebig einzustellen, wenn der Apparat, der deshalb nicht widerstandsfähiger hergestellt zu sein braucht als ein gewöhnlicher Dampftopf, mit einem aufgeschraubten, dampfdicht schließenden Deckel versehen wird.

In Fig. 85 ist T das Thermometer, H der Lufthahn, W der Wasserstand, B der Brenner, zu dem von A das Gas strömt, nachdem es durch den Regulator gegangen ist. An diesem ist C das Gehäuse, D das Gefäß, worin sich etwa 20 ccm Quecksilber befinden, S das Steigerohr für das Quecksilber, auf das der Dampfdruck vermittels des mit Wasser gefüllten Rohrs R übertragen wird. Da der Dampf nicht direkt, sondern erst auf die Wassersäule wirkt, ist eine Abnutzung der Dichtungen des Reglers, selbst nach langem Gebrauche nicht zu befürchten. Darin besteht ein wesentlicher Vorzug gegenüber solchen Regulatoren, die unmittelbar vom Dampfe berührt werden, wie das bei den namentlich in Frankreich konstruierten und gebräuchlichen Membranregulatoren der Fall ist. Weder mit diesen noch mit irgend einem anderen der bis dahin bekannten Regulatoren ließ sich ein geringer Ueberdruck so genau einhalten wie mit dem Lautenschlägerschen. Dabei wird der Gasverbrauch trotz der Erzielung einer höheren Temperatur geringer sein als bei gleichgroßen Töpfen für ungespannten strömenden Dampf. Zur weiteren Wärme- und Gasersparnis ist der Apparat mit einem äußeren Mantel umgeben, der mit einem schlechten Wärmeleiter bekleidet ist.

Nachdem in den Dampftopf etwa 5 l Wasser gefüllt und die zu sterilisierenden Dinge hineingestellt sind, wird der Deckel geschlossen, jede Flügelmutter gleichmäßig angezogen und nur der Hahn H offen gelassen, damit die Luft aus dem Apparat und den Objekten verdrängt werden kann. Das ist geschehen, wenn nach etwa ½stündiger Erhitzung Dampf aus H austritt und das Thermometer die Siedetemperatur zeigt. Dann wird der Lufthahn H geschlossen. Nun muß die Temperatur bis zu der Höhe steigen, auf die der Regulator eingestellt ist, also etwa bis zu 103°, und wird auf ihr konstant gehalten. Nach ½- bis 1stündiger Sterilisierung öffnet man den Lufthahn und schließt,

Digitized by Google

wenn der Dampf abgeblasen ist, den Gashahn. Hierauf können die Flügelmuttern aufgeschraubt und die Gegenstände aus dem Apparat genommen werden.

Soll ein derartiger Apparat z. B. für die Desinfektion von Verbandstoffen mit einem noch etwas höheren Ueberdruck verwendet werden, dann wird er widerstandsfähiger gebaut; der Regler bleibt derselbe.

Autoklaven sind Apparate für gespannten Dampf mit mindestens einer Atmosphäre Ueberdruck. Sie sind in Laboratorien viel in Verwendung genommen worden, solange die Möglichkeit fehlte, bei einem leicht gebauten Apparat wie dem eben genannten mit Sicherheit und Gleichmäßigkeit einen geringen Ueberdruck unter einer Atmosphäre zu geben. Ueberdruck ist aber für viele Desinfektionszwecke nicht zu entbehren, weil es Keime gibt, die dem strömenden Dampf für längere Zeit, ja sogar 5 und 6 Stunden lang widerstehen, auch wenn der Barometerstand 760 mm ist und die Dampftemperatur genau 100° beträgt.

Früher bediente man sich der sogenannten Papinschen Töpfe, wie sie in zahnärztlichen Arbeitsstätten gebräuchlich sind. Sie haben verschiedene Nachteile, die zu sterilisierenden Gegenstände werden durchnäßt, insbesondere aber bleibt die während der Sterilisation aus den Gegenständen austretende Luft im Apparat.

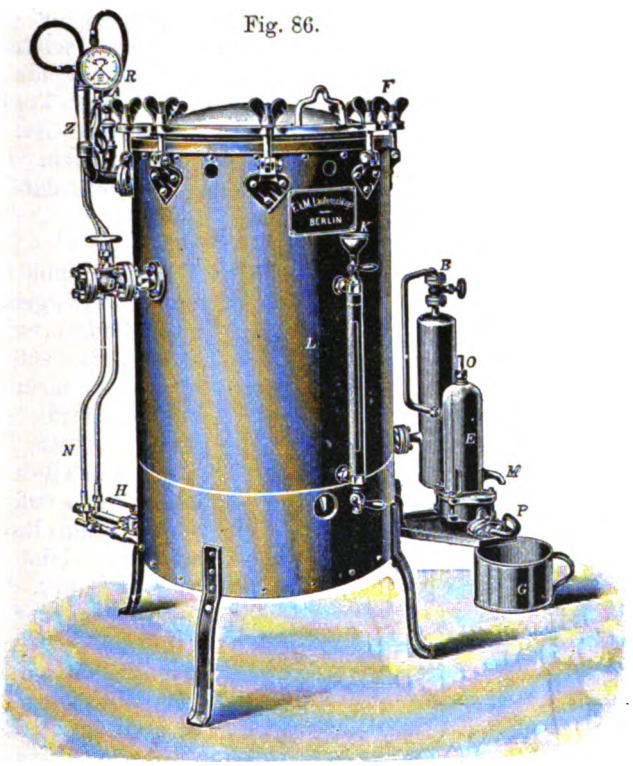
Die Firma F. & M. Lautenschläger in Berlin hat zunächst für die Sterilisation von Verbandstoffen für Operationsräume und Kliniken bestimmte, dann auch in die bakteriologischen Laboratorien eingeführte Apparate gebaut, die im Gegensatz zu den bis dahin gebräuchlichen für ruhenden gespannten Dampf mit strömendem gespanntem Dampf arbeiten. Der Vorteil ist, daß die Luft, die stets ein unüberwindliches Hindernis für eine richtige Dampfwirkung bietet, einwandfrei beseitigt wird, und zwar nicht bloß während der Dampferzeugung, sondern auch während der ganzen Dauer der Sterilisation. Das ist wichtig; denn die Luft wird aus lufthaltigen Gegenständen, wie Watte, Gaze und ähnlichen Stoffen, vom Dampf nur ganz allmählich verdrängt und muß in dem Maße, als sie zum Vorschein kommt, entfernt werden. Die Apparate sind auf einen Ueberdruck von 1 bis 2 Atmosphären eingestellt. Mehr zu geben, ist unnötig und würde die Anlage nur komplizieren und verteuern; nach den Versuchen von P. Frosch und Clarenbach (ZfH. 9. 183) wird bereits durch eine geringe Zunahme der Dampfspannung eine wesentliche Abkürzung der Eindringungsdauer erreicht und durch eine weitere Steigerung des Drucks kein nennenswerter zeitlicher Gewinn erzielt.

Der **Apparat für strömenden gespannten Dampf** (Fig. 86) besteht aus einem doppelwandigen kupfernen Kessel, der überdies noch in einem Außenmantel L hängt. Sein Innenraum ist genügend groß; für bakteriologische Zwecke reichen die Ausmaße von 60 cm Tiefe und 40 cm Dchm. Er wird von einem massiven Scharnierdeckel mit Gummidichtung und Flügelschrauben F gegen die äußere Atmosphäre dampfdicht abgeschlossen und ist mit Wasserstandsniveau, Einfüllhahn K, Luftventil Z, Sicherheitsventil (in der Figur hinter Z gelegen) und

Digitized by Google

Manometerregulator R versehen. Es befinden sich an ihm: ein Luftauffanggefäß mit Hahn B für die während der Sterilisation ausgetriebene Luft, ein Kondenstopf P, der die Aufgabe hat, den Dampf aufzunehmen, ohne ihn zu entspannen und das aus ihm gebildete Kondenswasser selbsttätig abzuführen; endlich auf diesem noch ein Kühler E zur Beseitigung belästigenden Dampfes nach beendigter Sterilisation; er besitzt zwei Stutzen mit Verschraubungen für Zu- und Ableitung des Kühlwassers, von denen in der Figur nur die Ableitung bei O zu

Fig. 86.



sehen ist, die durch ein Rohr mit der Abwasserleitung verbunden werden muß.

Das Wasser wird in die Doppelwand bis zu einer Pfeilmarke eingefüllt und durch zwei getrennte Gasbrennersysteme zum Sieden gebracht. Der entwickelte Dampf strömt nahezu an der höchsten Stelle ringsum in den Binnenraum und tritt an der tiefsten Stelle aus und zwar einerseits nach dem Kondenstopf P, anderseits nach dem Luftauffanggefäß B. Der Hahn bei B ist so lange offen zu halten, bis am Auslaß M des Kühlers E weißer Dampf, bezw. Kondenswasser austritt. Dann wird B geschlossen. Hierauf tritt der Manometerregulator R selbsttätig in Funktion; damit das in entsprechender Weise geschieht, mußte er vorher mit dem roten Zeiger auf den gewünschten Druck eingestellt werden. Nun wird man bemerken, daß der schwarze Zeiger anfängt, vorzurücken. Ist er bis auf etwa $^1/_{10}$ Atmosphäre an

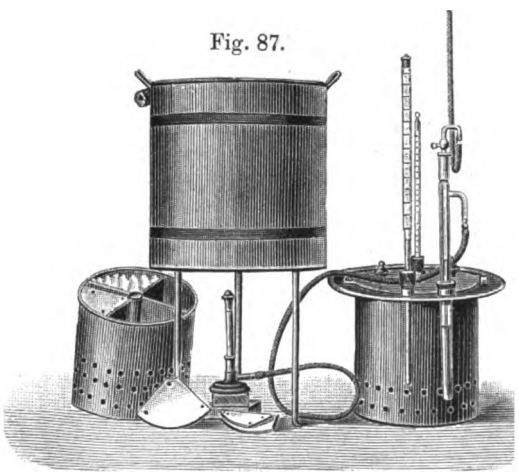
UNIVERSITY OF
Digitized by Google

den roten herangekommen, dann muß der Haupthahn H abgeschlossen werden, so daß nur noch das zweite an den Manometerregulator angeschlossene Heizsystem N in Tätigkeit bleibt. Dieses genügt, um den Dampfdruck weiter zu unterhalten. Von dem Augenblick an, wo der schwarze Zeiger den roten deckt, ist der Beginn der Sterilisation zu rechnen, deren Dauer sich mindestens auf 25 Minuten zu erstrecken hat; nur wenn komprimierte Stoffstücke oder Tiere (s. auch Tierversuch) oder sehr widerstandsfähige Sporen sterilisiert werden sollen, hat man etwa die doppelte Zeit anzunehmen.

Nach Ablauf der Frist wird die Flamme abgedreht und der Wasserleitungshahn geöffnet, so daß Wasser durch E strömt; schließlich öffnet man den Hahn B, worauf der aus dem Inneren kommende Dampf sofort kondensiert wird und destilliertes Wasser in den Topf G tropft. Wenn der Zeiger des Manometers auf Null gesunken ist, kann man die Flügelschrauben aufschrauben und den Deckel öffnen. Die Gegenstände sollen gleich nachher herausgenommen werden, damit sie nicht feucht bleiben.

Diskontinuierliche Sterilisation nach Tyndall muß bei Flüssigkeiten angewendet werden, die die Siedehitze nicht vertragen, ohne sich zu verändern, wie das Blutserum, das schon bei 75° und selbst darunter gerinnt. Man erwärmt auf die zulässig höchste Temperatur, in diesem Falle auf 65 bis 68° eine Stunde lang, wobei die sporenfreien Bakterien absterben. Um aber auch Sporenbildner, die im Blutserum von der Haut und den Haaren her vorhanden sein können, bei solch niedrigen Wärmegraden zu vernichten, gibt man ihnen zum Auskeimen etwa 24 Stunden Zeit und erwärmt dann abermals auf 65 bis 68°, wodurch die unterdessen aus den Sporen ausgewachsenen vegetativen Formen abgetötet werden. Wird in der Zwischenzeit die für das Auswachsen der Sporen günstige Wärme eingehalten, die durchschnittlich etwa bei 28 bis 30° gelegen ist, und wird die Sterilisation etwa 4mal wiederholt, dann läßt sich annehmen, daß nach und nach alle Sporen zu Bazillen ausgewachsen und durch die Erwärmung vernichtet worden sind. Das ganze Verfahren nimmt somit mindestens 5 Tage in Anspruch.

Fig. 87.



Die Erwärmung muß im Wasserbade erfolgen, wenn der Inhalt der Röhrchen gleichmäßig auf die erforderliche Temperatur gebracht werden soll. Ich habe zu diesem Zweck einen Apparat angegeben, wie ihn Fig. 87 zeigt. Dieser besteht aus einem Blechtopf mit Asbestbekleidung von 30 cm Höhe und 28 cm Dchm.; er wird zur Hälfte mit Wasser von der gewünschten Wärme gefüllt. In ihn hinein kommt

Digitized by Google

ein zylinderhutartiges Gefäß (21 : 20 cm), das seitlich durchlöchert ist und eine 4 bis 5 cm breite Krempe mit zwei Hülsen für Thermometer und Thermoregulator besitzt; diese Krempe ruht auf dem Rande des größeren Topfes und trägt einen mit Bajonettverschluß versehenen Deckel. In dieses zweite Gefäß wird der durchlochte Einsatzkorb mit den Reagenzgläsern gestellt; damit sie gut stehen, ist der Korb innen durch zwei sich kreuzende Querwände in vier Abteilungen geteilt; in jede wird eine passende Bleiplatte gelegt und zwar auf die Wattestopfen der Reagenzröhrchen. Der ganze Topf ruht auf einem Dreifuße.

Reinigung gebrauchter Züchtungsgefäße. Für sporenfreie Kulturen, sowie sporenhaltige, deren Widerstandsfähigkeit die der Milzbrandsporen nicht übersteigt, genügt eine $^3/_4$stündige Behandlung im strömenden Dampf, wenn die Flüssigkeitsmengen nicht so groß sind, daß man für die Durchwärmung, die sogenannte Eindringungsdauer der Hitze, Zeit zugeben muß. Die Durchhitzung geht im Dampftopf mit geringem Ueberdruck natürlich rascher vor sich.

Sporenhaltige Kulturen von der Resistenz der Erde- und Kartoffelbazillen behandle man mehrere Stunden im Dampftopf mit geringem oder im Autoklaven bei einer Atmosphäre Ueberdruck, wobei darauf zu achten ist, daß das Sporenmaterial dem Dampf leicht zugänglich ist oder unter Wasser taucht. Man kann hier gar nicht vorsichtig genug sein. Wenn nicht sämtliche Sporen abgetötet worden sind, kann der Betrieb des Laboratoriums auf Wochen hinaus gestört werden.

Beim einfachen Auskochen in Wasser oder schwacher Sodalösung werden zwar die sporenfreien Kulturen sterilisiert, es besteht aber keine Gewähr, daß das heiße Wasser an jeder Stelle wirkt; ferner kann durch frühzeitiges Ueberkochen Flüssigkeit, die noch keimhaltig ist, auf den Tisch gelangen. Deshalb nehme man die Sterilisierung stets im Dampfe vor und koche die Sachen höchstens nachträglich zur Beseitigung der gelatinierenden Nährbodenmassen oder sonst anhaftender Dinge in einem Topfe aus. Jeder Kochtopf muß einen Einsatz haben, damit die Gläser den Boden nicht berühren. Dem Wasser werde etwas Kristallsoda zugesetzt, so daß die Konzentration 0,5 % nicht übersteigt, denn konzentriertere Lösungen greifen die gläsernen Geräte zu sehr an und der Sodazusatz soll nur dazu dienen, auch bei fettigen Gläsern eine vollkommene Benetzung mit dem Wasser herbeizuführen.

B. Krönig und Th. Paul, die dieses Mengenverhältnis (0,5 %) vorschrieben, haben einen größeren Kupferzylinder mit zwei ineinander gefügten Einsätzen angegeben (MmW. 99. 1533). Die Gegenstände können darin die Wand des Kochgefäßes nirgends berühren, nach dem Auskochen sämtlich auf einmal herausgehoben und gefahrlos ins Spülzimmer getragen werden. Der Deckel des Topfes ist in der Mitte mit einem Rohrstutzen versehen, in den ein Liebigscher Rückflußkühler eingesetzt werden kann, um das Zimmer vor unnötigen Dämpfen zu bewahren.

Chemikalien finden zur Keimfreimachung von Nährmitteln nur in sehr beschränktem Maße Anwendung. Es sind bloß solche zu gebrauchen, die sich leicht und vollständig entfernen lassen, ohne das Mittel nachteilig verändert zu haben, z. B. Chloroform nach R. Koch

Digitized by Google

und M. Kirchner zur Sterilisierung des Blutserums (ZfH. 8. 465); es muß wochen- und monatelang einwirken. Aether, der den Vorteil hat, schon bei 30° zu sieden und sich deshalb (zumal bei Verwendung der Luftpumpe) leichter austreiben zu lassen, eignet sich speziell für Blutserum nicht, weil er mit ihm eine dicke, gelbe, undurchsichtige Flüssigkeit gibt. R. Wollny (C. 11. 752) und A. Reinsch (C. 12. 30) empfehlen ihn jedoch zur Sterilisierung anderer eiweißhaltiger, die Hitze nicht vertragender Nährböden. Erfolg ist nur zu erwarten, wenn keine besonders widerstandsfähigen Sporen vorhanden sind, und wenn der Aether lange genug hatte einwirken können.

Ich habe einmal einen vergleichenden Versuch angesetzt und gefunden, daß an Seidenfäden angetrocknete Milzbrandsporen abgestorben (—) oder am Leben geblieben (+) waren

nach Tagen	in Aether	in Chloroform, Chloroformwasser, Aetherwasser } 1 : 10	in 5proz. Karbolsäurelösung
16, 31, 45, 60	+	+	+
77	—	+	+
93	—	+	—
143	—	+	—

Des Interesses halber füge ich noch an, daß die nämlichen am 6. Nov. 1890 angetrockneten Milzbrandsporen am 3. März 1891 in Alkohol gelegt wurden und sich am 21. Nov. 1905, also nach über 14 Jahren entwicklungsfähig und voll virulent gezeigt haben.

Andere Antiseptika und Desinfizientien nichtflüchtiger Natur, namentlich Sublimat, taugen nicht zur Sterilisierung von Nährlösungen. Sublimat wirkt schon in den stärksten Verdünnungen giftig und entwicklungshemmend auf die Bakterien und läßt sich nicht aus den Substraten herausschaffen, ohne daß sie verdorben werden. Sublimat darf weder mit einem Meßzylinder noch mit einem Topf noch mit anderen Geräten, die irgend bei der Anfertigung von Nährmitteln in Frage kommen, in Berührung gebracht werden. Ausnahmen hat man nur bei der Reinigung der ungeschälten Kartoffeln gemacht, die aber zum mindesten in einem eigenen Becken vorgenommen werden muß, sowie bei der Herrichtung der großen Zylinder zum Auffangen des Blutes, die eine Erhitzung nicht aushalten. Man hat sie mit Sublimatlösung gespült und diese durch Alkohol zu entfernen gesucht, indem man darauf rechnete, daß sich allenfalls noch zurückgebliebene Spuren von Quecksilberchlorid mit dem Eiweiß zu unlöslichem und deshalb unschädlichem Quecksilberalbuminat vereinigten. Es reicht aber eine gründliche mechanische Reinigung mit ausgekochtem Tuch und dem noch warmen Wasser, mit oder ohne Vorspülung mit schwacher Sodalösung und Nachbehandlung mit Alkohol aus.

Früher hatte man die Gepflogenheit, alle bei den Züchtungen u. s. w. gebrauchten Dinge in einen Topf mit Sublimat zu werfen, aus dem sie nach einiger Zeit herausgenommen, gespült und von neuem verwendet wurden. Ich habe es einmal erlebt, wie infolge dieses Verfahrens die ganze Arbeit in den Laboratorien einer größeren Anstalt und sämtliche Reinkulturen in der empfindlichsten Weise gestört wurden. Jetzt dämpfen wir alle Gegenstände, die bei bakteriologischen Untersuchungen zur Verwendung gekommen sind, und kochen sie in Wasser oder $^1/_2$- bis $1\,^1/_4$ proz. Sodalösung aus.

Digitized by Google

Die gebräuchlichsten Nährmittel.

Nötige Bestandteile und Gebrauchsgegenstände.

Fleisch. Die Sorte ist im allgemeinen gleichgültig. Am häufigsten wird solches vom Rind, Kalb oder Pferd genommen, seltener von Kaninchen, Meerschweinchen, Hühnern, Fischen u. s. w.; auch mit Menschenfleisch sind Versuche angestellt worden; in Gebäranstalten hat man Nachgeburten verwendet (K. Menge, r. C. 14. 675); die Brühe davon reagiert auf Lackmus fast neutral und die damit bereiteten Nährmittel zeigen oft Trübungen, die schwer zu beseitigen sind. Pferdefleisch gibt eine leicht opaleszierende Brühe, außerdem enthält es mehr Glykose (Niebel). Die Glykose im Fleisch kann unter dem Einflusse des Bakterienwachstums zu Säuerungen Anlaß geben, darum hat man für Gärungsversuche (s. daselbst), sowie für die Gewinnung von Diphtheriegift die Glykose erst durch freiwillige Zersetzung oder durch Einimpfung von Bakterien, z. B. Bact. coli, entfernt.

Von welchen Muskeln eines Schlachttieres das Fleisch stammt, scheint belanglos zu sein; möglichst fettfreies Fleisch bekommt man vom Herzen, Deycke und Voigtländer nahmen zu einem besonders für die Züchtung von Diphtheriebazillen hergestellten Alkalialbuminatnährboden das Pferdeherz (C. 29. 617); ich lasse jetzt der Billigkeit halber die meisten Nährböden aus diesem Fleisch bereiten. Parenchymatöse Organe nimmt man gewöhnlich nicht oder nur mit Auswahl; Kalbslungenbouillon wurde speziell für Tuberkelbazillenzüchtung empfohlen. Von der Freibank ist billiger Bezug ermöglicht. Fleisch von finnigen, trichinösen, tuberkulösen Tieren läßt sich im allgemeinen ebenso verwenden wie völlig bankmäßiges. Doch eignet sich das von jüngeren, gutgenährten Tieren besser, und das des Kalbes wiederum mehr als das anderer Tiere. G. Mayer fand Substrate aus Speicheldrüsen für die Entwicklung und das bezeichnende Wachstum verschiedener Bakterienstämme besser als solche aus Muskelfleisch (C. 25. 747).

Die Reaktion des Muskelfleisches ist sauer, aber je nach dem Tiere und seinem Zustande vor der Schlachtung, sowie nach der Art und Zeit der Aufbewahrung recht verschieden. Ein Auszug aus meinen Protokollen der letzten 5 Jahre über 111 Fleischproben läßt die Unterschiede deutlich erkennen. Es verbrauchten bis zum Lackmusblauneutralpunkt an Normalnatronlauge, nachdem allerdings bereits Kochsalz und das auf Lackmus schwach alkalisch reagierende Pepton zugegeben worden war, auf 1 l:

Anzahl der Proben		durchschnittlich	im Minimum	im Maximum
53	Herz vom Pferd	5,5	0	12,4
5	Fleisch vom Rind	7,5	4,2	12,2
36	„ „ Kalb	9,0	0	19,5
8	„ „ Kaninchen . . .	9,3	7,0	13,9
1	„ von der Katze	9,6	—	—
8	„ vom Pferd	12,7	6,0	19,0

Eine Fleischhackmaschine ist notwendig, weil man Fleisch in gehacktem Zustande nicht beziehen soll. Weniger nötig, aber emp-

Digitized by Google

fehlenswert ist eine Fleischpresse (Fig. 88) für das 24 Stunden lang mit Wasser mazerierte Fleisch.

Beim Auskochen des Fleisches ist sie entbehrlich. Dieses geschieht im Wasserbade, was besser ist als das Auskochen über freier Flamme, bei dem man unter den Kochtopf (aus Email) eine Asbestplatte legen und öfter umrühren muß, um den Inhalt vor dem Anbrennen zu bewahren.

Emailgefäße sind den gläsernen wegen ihrer bedeutend größeren Widerstandsfähigkeit vorzuziehen. Man braucht Töpfe von 2 bis 4 l Inhalt, ferner becherförmige mit Deckel und beweglichem Draht-

Fig. 88.

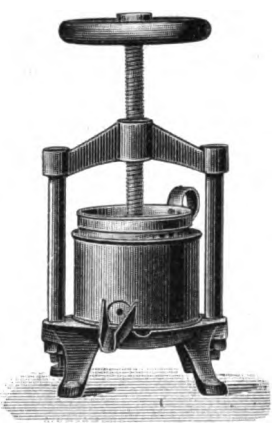
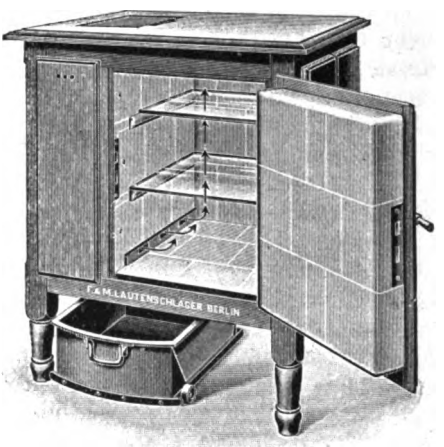


Fig. 89.



bügel, wie sie im Handel unter dem Namen „Suppentöpfe“ (Fig. 90) allenthalben zu haben sind. In der Regel bedarf man eines kleineren von 3/4 und eines größeren von 1 1/2 l Inhalt. Zum Umrühren benutzt man Löffel oder sogenannte Rührstäbe, das sind Glasstäbe, die am Ende mit einem kurzen Stückchen Gummischlauch überzogen sind (Fig. 100, S. 91). Sie sollen bei jedesmaliger Bereitung der Nährböden mit sterilisiert werden.

Ein Eisschrank ist vielfach nötig zum Aufbewahren von Fleischwasser, aber auch von fertigen Nährböden, von Blutserum u. dergl. In Pestlaboratorien braucht man ihn sogar bei der Züchtung, weil die Pestbakterien aus einem Fäulnisgemisch eher auswachsen als die meisten Fäulniserreger. Die Temperatur in einem Eisschrank geht meistens nicht unter + 7 ° herab. Am saubersten im Aussehen und in der Handhabung sind die allerdings teuern mit glasierten Kacheln ausgelegten, mit Glasregal versehenen und für zweckmäßige Leitung der Kühlluft eingerichteten Eisschränke der Fig. 89.

Fleischextrakt-Lösungen kommen dem Fleischwasser nahe, sind aber nicht mit ihm gleichwertig. Abgesehen davon, daß sie dunkler aussehen, mangeln ihnen gewisse Stoffe des Fleisches. Um einen fehlenden Phosphatgehalt zu ergänzen, hat J. Thomann den 0,6proz. Lösungen 0,2 % Dikaliumphosphat zugegeben (C. 6. 796). Für Wasser-

Digitized by Google

untersuchungen ist amtlicherseits in den „Grundsätzen für die Reinigung von Oberflächenwasser durch Sandfiltration zu Zeiten der Choleragefahr“ (KGA. Veröff. 99. 107) die Verwendung 1proz. Lösungen von Fleischextrakt wegen seiner gleichmäßigen Zusammensetzung vorgeschrieben worden. (Näheres s. bei Wasser.) Störend kann das Vorkommen von Sporen (Wilhelmy, r. HR. 05. 318) werden, die die übliche Sterilisation im strömenden Dampf überdauern und danach meist recht langsam auswachsen.

Harn anstatt Fleischwasser zu verwenden, hat J. Heller (BkW. 90. 893) vorgeschlagen, weil er an sich dem gekochten eiweißfreien Fleischwasser ähnlich sei, aber keine Fäulnisprodukte berge, keine Trübungen gebe und keine Kosten verursache. Er soll 1010 spez. Gewicht haben. Die Harnfarbstoffe, die die Bakterienentwicklung ungünstig zu beeinflussen scheinen, können teilweise wenigstens durch Tierkohle beseitigt werden. Zu allgemeiner Anwendung ist der Harn nicht gekommen, die Kolonien wachsen nicht so charakteristisch auf ihm; für bestimmte Zwecke, nämlich zur Typhusdiagnose, machte einst ein von Piorkowski angegebener Nährboden viel von sich reden, dessen Schwerpunkt jedoch nicht in der Anwendung von Harn, sondern in einem sehr geringen Gelatinezusatz beruhte; er ist längst wieder verlassen worden. Eine eingehende Nachprüfung hat u. a. A. Peppler (Dissertation, Erlangen 1900) in meinem Institute gemacht.

Will man Harn zu Untersuchungen etwa über Bakterien der Harngärung möglichst unverändert verwenden, so kann man die zweite Portion nehmen, die beim freiwilligen Urinlassen aus der männlichen Harnröhre kommt; sie ist gewöhnlich keimfrei; sicher wird sie es mittels Filtration durch ein bakterienzurückhaltendes Filter; Kochen zersetzt den Harnstoff.

Milch wird sehr viel als flüssiges Nährmittel ohne einen Zusatz gebraucht. Mit gleichen Teilen Nähragar vermischt ist sie zur Erkennung von peptonisierenden Bakterien bei Anwendung von Brütschranktemperatur benutzt worden; denn infolge Peptonisierung des Kaseins tritt eine Aufhellung des weißen Nährbodens in der Umgebung der betreffenden Ansiedlungen ein (C. Eijkman u. a., C. II. 10. 531).

Die Milch enthält oft sehr widerstandsfähige Sporen von der Haut, den Haaren und der Stallstreu und muß deshalb nach der Sterilisierung, die zur Vermeidung von Karamelisierung des Milchzuckers nicht zu weit getrieben werden darf, aufmerksam auf Keimfreiheit beobachtet werden; d. h. man sieht nach, ob die Milch unverändert in ihrem Aussehen bleibt, ob sich nicht mit der Zeit unter der Rahmschichte eine durchscheinende molkenartige Flüssigkeit von schwach alkalischer Reaktion bildet, auf deren Grund das geronnene und teilweise peptonisierte Kasein liegt.

Molken werden bei der Typhusdiagnose in Form der Lackmusmolke verwendet (fertig zu beziehen von Kahlbaum in Berlin); sie dienten außerdem vielfach zur Bereitung von festen Nährböden für bakteriologische Untersuchungen im Interesse der Milchwirtschaft. Die Milch wird bei 40° mit Lab zur Gerinnung gebracht und die Molke

Digitized by Google

mit Gelatine oder Agar, allenfalls mit 1% Pepton und ½% Kochsalz versetzt.

Ueber andere Nährmittel und besondere Zubereitungsmethoden s. später bei Blutserum, Hämoglobin, Eiern, Kartoffeln u. s. w.

Gelatine. Man wähle die reinste Speisegelatine, Gelatina albissima, die in guten Drogenhandlungen zu bekommen ist. Die Marken sind recht verschieden, was sich unter anderem im Säuregehalt ausdrückt; so verbrauchten z. B. zwei von verschiedenen Geschäften bezogene Tafeln bei der Titrierung berechnet auf 100 g: 23,72 und 29,82 Normalnatronlauge. Mitunter kommen verunreinigte Tafeln vor, die widerstandsfähige Keime enthalten, glücklicherweise sind Sporen, die die übliche Sterilisierung im Dampf überdauern, selten darin. Gelegentlich der arzneilichen Verwendung von Gelatine zu Einspritzungen beim Menschen zeigte sich, daß nicht selten Tetanuskeime daran haften, worauf zuerst F. Kuhn (MmW. 01. 1923) aufmerksam gemacht hat. Hitzebeständige, auf die Verunreinigung mit Erdeteilchen hinweisende Keime habe ich bereits im Jahre 1893 gefunden (C. 13. 649). Die Sterilisation soll deshalb nach E. Levy und H. Bruns 40 Minuten lang im strömenden Dampf von 100° geschehen (DmW. 02. 130).

Die in warmem Wasser gelöste und dann erstarren gelassene Gelatinemasse ist nicht brutbeständig, sie wird bei Wärmegraden von über 30° weich und dann flüssig. Zu starke oder zu lange dauernde Erhitzung, wiederholte Erweichung, Zusatz von Alkalien oder von gewissen Chemikalien (z. B. bei Desinfektionsversuchen von Phenol) beeinträchtigen die Erstarrungsfähigkeit und erniedrigen den Schmelzpunkt. Nach C. van der Heide wird der Verflüssigungspunkt für die Stunde Erwärmung bei 100° durchschnittlich um 2° herabgesetzt (AfH. 31. 82) und Erhitzungen über 100° haben eine starke Peptonisierung der Gelatine und eine rapide Erniedrigung ihres Schmelzpunktes auch bei kurzer Einwirkungsdauer zur Folge (W. Gaehtgens, AfH. 52. 239).

Durch peptonisierende Fermente wird der Leim in flüssiges Leimpepton übergeführt, daher die Verflüssigung seitens gewisser Bakterienkulturen.

Agar hat den erheblichen Vorteil vor der Gelatine, daß er eine brütbeständige Gallerte liefert, die erst bei etwa 98° schmilzt und bei etwa 40° wieder fest wird. Sie ist von Frau Angelina Hesse in die bakteriologische Technik eingeführt worden. Agar-Agar, wie es eigentlich heißt, ist ein neutral reagierender Stoff pflanzlicher Herkunft, gewonnen aus Algen, die in Ostindien als Nahrungsmittel dienen, auch Gelose genannt und in der französischen Literatur stets so bezeichnet. Die pektinartige Masse ist ein Kohlehydrat oder ein Gemisch aus verschiedenen Kohlehydraten und enthält keinen Leim, kann also auch nicht von peptonisierenden Mikroorganismen verflüssigt werden. Unter den Meeresbakterien fand jedoch H. Gran einige Arten, von denen ein Kohlehydrat des Agars zur Lösung gebracht wird; das von ihnen gebildete Enzym ist also von der Diastase verschieden; er nannte es Gelase (C. II. 9. 562).

Agar ist in Gestalt vierkantiger Säulen oder der Seelen von Feder-

Digitized by Google

spulen oder in Pulverform im Handel. Die einzelnen Sorten sind sowohl in ihrem Preis als in ihrer Löslichkeit verschieden, dagegen kennt man keinen Unterschied hinsichtlich ihrer Brauchbarkeit als Zusatz zu Nährmitteln. Der teuere Säulen- oder Stangenagar, von dem das Kilo etwa 10 Mk. kostet, löst sich am schwersten in Wasser und gibt eine sehr gute, feste Gallerte, federkiel- und pulverförmiger Agar (4 ½ bis 7 Mk. das Kilo) lösen sich leichter und eignen sich nicht minder für Nährböden. Gewöhnlich wird die Lösung 1 ½prozentig gemacht, für besondere Zwecke, wo man einen recht trockenen, von Preßwasser, das namentlich aus niederprozentigen Agarlösungen ausgeschieden wird, möglichst freien Nährboden haben will, wird sie 3prozentig genommen (s. S. 95).

Da der Agar, wie erwähnt, neutral ist, verändert er die Reaktion der Nährflüssigkeit nicht.

Die Lösung geht in saurer Flüssigkeit leichter von statten als in alkalischer; sie muß bei lebhaftem Kochen geschehen; man stellt deshalb, wenn man nicht gespannten Dampf anwenden will, das Kochgefäß über die freie Flamme, legt zum Schutze gegen Anbrennen eine Asbesttafel unter und rührt von Zeit zu Zeit um. Die Auflösung gelingt eher, wenn man den pulverförmigen oder den in kleine Stücke zerschnittenen anderen Agar vorher einige Zeit, eine halbe bis mehrere Stunden oder sogar über Nacht, in der Flüssigkeit quellen läßt. Von verschiedenen Seiten ist sogar Einweichung in schwachen Säuren, wie Salzsäure, Essigsäure, Moselwein u. s. w., empfohlen worden, sie muß aber vorsichtig und nicht zu lange geschehen (vergl. S. 97), denn der Agar verliert sonst durch Säurewirkung an Erstarrungsfähigkeit, die sich auch durch nachträgliche Alkalisierung nicht wiederherstellen läßt.

Ersatzmittel sind, wenn sie nicht besonderen Zwecken dienen sollen, überflüssig; als solche wurden empfohlen: Kieselsäure (r. C. 8. 410; C. 10. 209; C. II. 1. 722); Fucus crispus (C. 3. 540); Carragheen oder irisches Moos (Jahrber. 2. 431); Sphaerococcus confervoides (C. 10. 122).

Pepton. Unter den Pulvern des Handels wähle man nur weiße (Peptonum siccum purissimum). Auch davon sind die verschiedensten und durchaus nicht immer gleich gut für unsere Zwecke geeigneten Präparate im Handel. Das von Witte in Rostock bezogene wird zur Nährbodenbereitung wohl am meisten gebraucht. Es reagiert auf Lackmus schwach alkalisch, auf Phenolphthalein sauer. Speziell für die Erzielung einer schönen Indolreaktion (s. daselbst) fanden O. Voges und B. Proskauer das von König in Leipzig bezogene Peptonum e carne am geeignetsten. K. Gorini stellte folgende Forderungen an ein gutes Pepton, insbesondere für die Indolreaktion (C. 13. 792): „Es soll weiß, geruchlos und im Wasser, zumal nach Erwärmung ganz löslich sein; seine wäßrige Lösung muß klar und farblos aussehen, neutral oder schwach alkalisch reagieren, beim Schütteln einen ziemlich beständigen Schaum bilden, mit Fehlings Lösung eine durch Aufkochen unveränderliche violette Färbung annehmen, mit Grießschem Reagens nitritfrei sein und mit Diphenylamin einen nach etwa 5 Minuten schwach, aber deutlich sichtbaren, schmalen, hellblauen Ring geben."

Digitized by Google

Eine Peptonlösung bräunt sich durch zu lange oder zu starke Erhitzung (H. Walbaum C. 30. 790).

Albumose anstatt Pepton ist verschiedentlich empfohlen worden, so von W. Hesse und Niedner (ZfH. 29. 460) der Nährstoff Heyden (Radebeul bei Dresden) insbesondere für Wasseruntersuchungen und zum Tuberkelbazillennachweis (s. daselbst). Zur Lösung schüttet man das Präparat erst in die etwa 3fache Menge Wassers, benetzt es durch Umschwenken des Glases, quirlt zu Schaum und fügt schließlich heißes destilliertes Wasser zu. Für andere Zwecke ist Nutrose, auch Tropon genommen worden, z. B. als Zusatz zum Lackmuslaktoseagar (s. S. 95).

Verschiedenes. Kochsalz, verschiedene Zuckerarten, Glyzerin, organische und Mineralsäuren, Alkalien und andere Chemikalien sollen nur in chemisch reinen Präparaten Verwendung finden.

Normallösungen sind bekanntlich solche Lösungen, die den betreffenden Körper in dem seinem Verbindungsgewichte entsprechenden Verhältnis in einem Liter destillierten Wassers als Grammolekül gelöst enthalten, so z. B.:

Salzsäure $HCl = 36{,}5$	Schwefelsäure $H_2SO_4 = 98 : 2 = 49{,}0$
Kaliumhydrat $KHO = 56{,}0$	Oxalsäure $C_2O_4H_2 + 2H_2O = 126 : 2 = 63{,}0$
Natriumhydrat $NaOH = 40{,}0$	Natriumkarbonat $Na_2CO_3 = 106 : 2 = 53{,}0$

Natriumkarbonat kristallisiert $Na_2CO_3 + 10H_2O = 286 : 2 = 143{,}0$.

Zur Herstellung geht man am besten nach Gay-Lussac von chemisch reinem Natriumkarbonat aus. Anleitungen zur Darstellung findet man in den verschiedenen Lehrbüchern und Anleitungen zur Maßanalyse, z. B. in F. P. Treadwell, Lehrbuch der analytischen Chemie, 2. Band, Quantitative Analyse; Leipzig bei F. Deuticke, 2. Aufl. 1903. Für unsere Verhältnisse ist es einfacher, von einer zuverlässigen Quelle, z. B. einer chemischen Fabrik, wie E. Merck in Darmstadt, einen Liter Normalsäure zu beziehen, und zwar Normalschwefelsäure, die sich am besten aufbewahren läßt. Darauf kann man Laugen und auf diese wieder andere Säuren einstellen und so die verschiedenen Normallösungen erhalten, von denen ganz genau gleiche Mengen Säure und Lauge (etwa 10 ccm) sich gegenseitig auf den Tropfen neutralisieren müssen. Als Indikator dient Phenolphthalein, bei kohlensauren Alkalien Methylorange.

Will man z. B. auf die Normalschwefelsäure eine Natronlauge einstellen, so daß sie ebenfalls normal wird, wägt man 45 g Natriumhydrat (reinstes Aetznatron) auf einer gewöhnlichen Wage ab, spült mit destilliertem Wasser ab, um die Oberfläche, die meistens viel Karbonat enthält, möglichst davon zu befreien, verdünnt zunächst mit 500 ccm Wasser, wartet die Lösung ab, gibt davon 10 ccm in heißes destilliertes Wasser und titriert mit der Normalschwefelsäure, um zu erfahren, wieviel jene 10 ccm Lauge davon zur Neutralisation (Indikator Phenolphthalein) brauchen; dies muß wiederholt geschehen, bis der Titer 2mal derselbe ist. Gesetzt, es wären 18,3 ccm Normalsäure zur Neutralisierung erforderlich gewesen, so ergibt sich nach dem Ansatz: $10{,}0 : 18{,}3 = 500{,}0 : x$; $x = 915$; man weiß nun, daß noch 415 ccm destillierten Wasser zu jenen 500 ccm Lauge gesetzt werden müssen, damit die Natronlauge normal wird. Wenn dies geschehen ist, wird nochmals titriert und die allenfalls noch nötige Richtigstellung mit der entsprechenden kleinen Menge destillierten Wassers vollzogen.

Als **Indikatoren** zum Anzeigen des Umschlags der sauern oder neutralen Reaktion in die alkalische oder umgekehrt verwenden wir für Nährböden Lackmus und Phenolphthalein.

Lackmuspapier wird am besten von einer zuverlässigen Firma fertig bezogen. Wir ziehen das Postpapier dem Filtrierpapier vor, und

Digitized by Google

zwar nehmen wir, um übereinstimmende Ergebnisse zu haben, immer dasselbe Fabrikat, z. B. die in Buchform gebundenen Streifen aus der Fabrik von E. Dietrich in Helfenberg i. S. Dieses dient insbesondere für die Feststellung des Lackmusblauneutralpunktes (s. S. 81). Soll der Nährboden an der Grenze der Neutralität belassen werden und eher noch leicht sauer reagieren, wie es z. B. für den Malachitgrünagar (s. S. 96) sein soll, nimmt man das Duplitestlackmuspapier derselben Fabrik, bei dem Lackmusrot und -blau oder vielmehr Neutralviolett nebeneinander auf einem Streifen weißen Papiers angebracht sind. Die Prüfung muß stets bei Tageslicht angestellt werden.

Lackmustinktur brauchen wir hauptsächlich zur Herstellung von Lackmuslaktoseagar (s. S. 95); sie wird in fertiger Lösung von C. A. F. Kahlbaum in Berlin bezogen. Dieselbe Firma liefert die ebenfalls beim Typhusnachweis verwendete Lackmusmolke. Für die Selbstbereitung der Lackmustinktur, die zur Aufbewahrung nach W. v. Drigalski mit etwa 10 % Spiritus versetzt wird, eignet sich folgende Vorschrift aus Tiemann-Gärtners Handbuch der Untersuchung und Beurteilung der Wässer (Braunschweig bei F. Vieweg & Sohn, 4. Aufl. 1895, S. 383):

Der gepulverte käufliche Lackmusfarbstoff wird wiederholt mit heißem, destilliertem Wasser behandelt. Die wäßrigen Auszüge werden behufs Zersetzung der darin vorhandenen Karbonate (Kaliumkarbonat) mit Essigsäure gelinde übersättigt und auf dem Wasserbade bis zur Konsistenz eines dicken Extrakts, keineswegs aber bis zur Trockenheit eingedampft. Den schwerflüssigen Rückstand verdünnt man allmählich mit 90proz. Alkohol, bringt das Gemisch in einen Kolben und fügt eine reichliche Menge 90proz. Alkohols hinzu. Es wird dadurch der gegen Säuren und Basen äußerst empfindliche Farbstoff gefällt, während ein weniger empfindlicher roter Farbstoff und Kaliumacetat in Lösung gehen. Man filtriert und wäscht mit Weingeist aus. Der zurückbleibende Farbstoff wird in destilliertem Wasser unter Erwärmen gelöst und die Lösung filtriert.

Phenolphthalein wird in 1proz. alkoholischer Lösung (durch sehr verdünnte Natronlauge eine Spur rötlich gefärbt) vorrätig gehalten. Man kann auch Fließpapier mit ihr tränken und trocknen lassen. Bei der Tüpfelprobe zeigt sich, wenn der Umschlag in die alkalische Reaktion kommt, ein roter Rand um den aufgegebenen Tropfen.

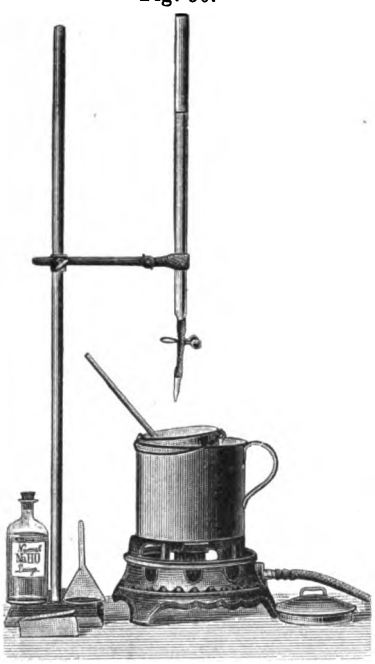
Methylorange, zur Titrierung von Karbonaten geeignet, wird in wäßriger Lösung 1 : 1000 angesetzt. Eine gute Zusammenstellung der Indikatoren und ihrer Anwendung findet sich bei K. B. Lehmann, Methoden der praktischen Hygiene (Wiesbaden bei J. F. Bergmann, 2. Aufl. 1901, S. 26 f.).

Neutralisierung und Alkalisierung. In der Regel werden die Nährböden mit Natronlauge bis zum Lackmusblaupunkt neutralisiert und dann bis zu einem gewissen Grade mit Soda alkalisiert. Man könnte es für geratener halten, mit Kalilauge zu neutralisieren, weil nachher mit der Sodalösung nochmals Natriumsalz zugeführt wird, um den Bakterien beide Metalle, die in geringer Menge von Haus aus in der Bouillon enthalten sind, in nicht zu großem Verhältnisunterschied zu bieten. In der Praxis hat sich aber gezeigt, daß die Bakterien im allgemeinen Natrium bevorzugen, wenigstens ist dies von F. Loeffler bei Typhusbazillen, von O. Voges bei Cholera- und Milzbrandbazillen und von mir bei Pneumokokken beobachtet worden.

Digitized by Google

Fig. 90 zeigt die Neutralisierung. Dabei wäre es nicht nötig, Normallauge und eine Bürette zu verwenden, aber es lohnt sich wegen der Möglichkeit des Vergleichs mit früheren und späteren Nährlösungen. Bei der Alkalisierung soll dagegen genau gemessen oder gewogen werden. Neutralisierung und Alkalisierung müssen stets in heißer Flüssigkeit vorgenommen werden, darum steht der Emailtopf mit der Nährlösung im Wasserbade über Feuer. Zwischen der Neutralisierung und Alkalisierung kann man, einer alten Vorschrift folgend, eine Erhitzung im Dampftopf für etwa 1/4 Stunde einfügen, um den Salzen Zeit zur Umsetzung bei höherer Temperatur zu geben. Tatsächlich findet man danach oft die neutrale Reaktion ein klein wenig nach der sauern zurückgegangen und muß nochmals etwas Kalilauge bis zur Erreichung des Neutralpunktes zugeben. In der Regel ist dies mit einem, höchstens 2 ccm Normallauge aufs Liter getan und es verlohnt sich eigentlich nicht, diese Gepflogenheit beizubehalten, bei Gelatinenährböden hat man sogar guten Grund sie zu verlassen, weil man dadurch 1/4 Stunde Erhitzung spart, die den Schmelzpunkt der Gelatine nachteilig beeinflussen muß. Man schädigt dagegen weder die Nährflüssigkeit noch die Untersuchungsergebnisse, wenn man nach der Erreichung des Lackmusblauneutralpunktes noch einige Tropfen bis zu 1 ccm Normalkalilauge mehr zugibt, für das Weniger oder Mehr ist der ermittelte ursprüngliche Säuregehalt der Nährlösung maßgebend. Wie weit man dann noch alkalisieren soll, richtet sich nach den gegebenen Verhältnissen, die später erläutert werden. In jedem Falle, besondere Umstände ausgenommen, wird mit Soda alkalisiert.

Fig. 90.



Die jetzt allgemein, insbesondere für die Bereitung der Nährgelatine angenommene Verwendung von zweierlei Alkalien geschieht auf den Rat von E. Zettnow, der also begründet ist: Bei der anfänglichen Neutralisierung darf nicht Soda genommen werden, weil die frei werdende Kohlensäure die Tüpfelreaktion auf Lackmus beeinträchtigen würde; und bei der Alkalisierung der neutral gemachten Lösung nehmen wir keine Natron- oder Kalilauge mehr, weil sie mit den stickstoffhaltigen Stoffen der Lösung unerwünschte und unkontrollierbare Verbindungen (zu Ammoniak u. dergl.) eingehen könnte, was bei Soda nicht der Fall ist. In der Tat hat sich in späteren Untersuchungen von M. Deeleman der Zusatz von Soda für die große Mehrzahl der untersuchten Bakterien vorteilhafter als der von Aetznatron erwiesen (KGA. Arb. 13. 374). Nur für Milzbrandbazillen ist der Zusatz von Aetznatron günstiger als der von Soda (L. Heim, C. 17. 193); aber bei dem ohne-

Digitized by Google

hin üppigen Wachstum dieser Bazillen macht das nicht so viel aus, daß man für sie einen besonders alkalisierten Nährboden herzustellen brauchte.

Die Vorgänge bei der Neutralisierung und Alkalisierung kann man sich folgendermaßen vorstellen: Fleischwasser aus frischem Fleisch, namentlich junger Tiere, reagiert amphoter, d. h. es ruft auf empfindlichem blauem Lackmuspapier Rötung, auf empfindlichem rotem Bläuung hervor. Das beruht auf der Gegenwart von phosphorsauren Salzen; sie sind sowohl als primäre wie als sekundäre vorhanden. Die Mono-, Di- und Triphosphate reagieren, wie an dem Beispiel eines Kalisalzes gezeigt werden soll, also:

		auf Lackmus	auf Phenolphthalein
Primäres oder Monokaliumphosphat	KH_2PO_4	sauer (rot)	sauer (farblos)
Sekundäres oder Dikaliumphosphat	K_2HPO_4	alkalisch (blau)	sauer bezw. neutral (farblos)
Tertiäres oder Trikaliumphosphat	K_3PO_4	alkalisch (blau)	alkalisch (rot).

Nach Zusatz von etwas Alkali zum Fleischwasser wird blaues Lackmuspapier bald eine geringe Zunahme seines Farbentons zeigen: Die Reaktion der Bouillon ist beim „Lackmusblauneutralpunkt" angelangt, man hat die von Petri und Maaßen so genannte „Lackmusbouillon" (KGA. Arb. 8. 311).

Bei Fleischwasser, das von Haus aus sauer ist, sind noch mehr und andere saure Salze, vielleicht auch freie Säuren vorhanden, dann fehlt die amphotere Reaktion und es ist natürlich entsprechend mehr Alkali bis zur Erreichung des Lackmusblauneutralpunktes erforderlich.

Bei weiterem Zusatz von Alkali werden immer mehr sekundäre Phosphate gebildet, das Lackmuspapier zeigt zunehmende Bläuung, aber Phenolphthalein zunächst noch keine Rötung.

Die Rotfärbung in der mit einigen Tropfen Phenolphthalein versetzten Lösung oder bei der Tüpfelung auf Phenolphthaleinpapier tritt erst ein, wenn alle Phosphate als sekundäre Salze vorhanden sind, so daß der nächste Tropfen Alkali Anlaß zur Bildung von tertiären Phosphaten gibt. Dann hat man die sogenannte „Phenolphthaleinbouillon".

Die meisten Bakterien wachsen nach Petri und Maaßen in einer solchen Fleischbrühe noch gut, vielen sagt aber das reichlich vorhandene sekundäre Phosphat nicht zu, sie gedeihen besser in einer Bouillon, die neben dem sekundären auch noch primäres Phosphat enthält. Das Alkalinitätsoptimum liegt für die meisten Bakterien zwischen dem Alkaligehalt der Lackmus- und der Phenolphthaleinbouillon.

Der gewünschte Grad der Alkalinität kann auf verschiedene Weise erreicht werden, und zwar durch:

1. Titrierung bis zum Phenolphthaleinpunkt und darauffolgenden Zusatz einer bestimmten Menge von Normalsalzsäure, die man für die betreffenden Mikroorganismen als am besten befunden hat. H. Timpe, der dieses Verfahren eingeführt hat, ermittelte bei Nährgelatine als die speziell zum Wachstum der Choleravibrionen geeignetste Azidität den Zusatz von 16 ccm $^1/_{10}$ Normalsäure, wobei der Nährboden immer noch über Lackmuspunkt alkalisch war; noch bessere Resultate wurden erzielt, wenn statt Salzsäure das saure Mononatriumphosphat genommen

Digitized by Google

wurde (die entsprechende Menge war 2,208 g; C. 14. 845). Ein ähnlicher Versuch mit Schweinerotlaufbazillen ist im Abschnitte über Merkmale bei der Züchtung aufgeführt. Für die Bereitung der Nährböden wird jedoch meistens von diesem Verfahren nicht Gebrauch gemacht, sondern es wird nur so viel Alkali zugegeben, daß man den Phenolphthaleinpunkt nicht ganz erreicht.

2. Titrierung nicht ganz bis zum Phenolphthaleinpunkt. Dies kann geschehen:

a) durch Zusatz einer bestimmten Menge von Soda über den Lackmuspunkt;

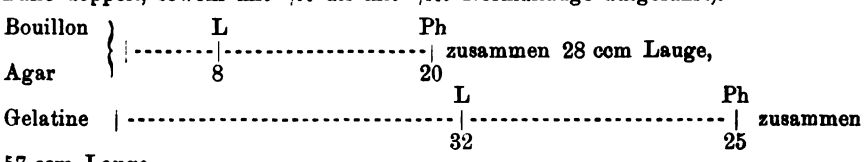
b) durch Austitrierung des Phenolphthaleinpunktes an einer kleinen Probe und Zugabe eines Bruchteils der auf das Ganze berechneten Menge.

a) Ein Zusatz von 1,5 g Kristallsoda auf 1 l zu dem auf den Lackmusblauneutralpunkt bereits eingestellten Nährboden wurde von M. Dahmen für Züchtung speziell von Wasserbakterien auf Nährgelatine als geeignet befunden (r. C. 12. 302) und ist später auch in der Reichsvorschrift (KGA. Veröff. 99. 107) angenommen worden. In Normalsodalösung umgerechnet sind dies rund 10 ccm aufs Liter oder 1 ccm Normalsodalösung auf je 100 ccm. In der „Anweisung zur Bekämpfung der Cholera" (Berlin 1904) sind 3 ccm einer 10proz. Lösung von kristallisiertem kohlensaurem Natron auf je 100 ccm Nährgelatine für den Nachweis der Choleravibrionen verlangt, was einer Menge von 2,08 ccm Normalsodalösung, also etwa der doppelten Menge wie für die gewöhnliche Nährlösung entspricht.

Diese Mengen können bloß bei Gelatine Geltung haben. Für Bouillon und Agar wären sie zu groß; bei diesen würde durch einen solchen Zusatz der Phenolphthaleinpunkt erreicht, ja sogar überschritten. Denn bei der Gelatinelösung sind infolge des Gehalts der Gelatinetafeln an Phosphaten und anderen Stoffen die Verhältnisse ganz anders als bei der einfachen Fleischwasserpeptonlösung oder bei der Fleischwasserpeptonagarlösung, denn der Agar ist, wie erwähnt, neutral. Ein Beispiel möge dies erläutern:

Es wurde ein Fleischwasser aus einem Pfund Rindfleisch bereitet und in 3 Teile geteilt, von denen der eine zu Bouillon, der andere zu Agar und der dritte zu Gelatine verarbeitet wurde.

Bouillon und Bouillonagar verhielten sich in ihrem Verbrauch an Alkali bis zum Lackmus- und Phenolphthaleinpunkt gleich; sie sind in der oberen Linie zusammengenommen, deren Länge so viel Teilstriche beträgt, als Kubikzentimeter Normallösung auf das Liter berechnet nötig waren (die Titrierung wurde in jedem Falle doppelt, sowohl mit $^1/_{10}$ als mit $^1/_{100}$ Normallauge ausgeführt).



57 ccm Lauge.

Die Gelatine hat also allein bis zum Lackmuspunkt mehr Alkali verbraucht als die Bouillon oder der Agar bis zum Phenolphthaleinpunkt. Der letztere war bei Gelatine so weit vom Lackmuspunkt entfernt, daß ihn selbst die große Menge von 20,8 ccm Normalsodalösung, wie sie die Reichsvorschrift für den Choleranachweis verlangt, noch nicht erreicht hätte, während er bei der Bouillon und beim Agar bereits etwas überschritten gewesen wäre. Es gibt aber Fleischwasser von

Digitized by Google

so geringem Säuregehalt, daß die Entfernung des Phenolphthaleinpunktes vom Lackmuspunkt wesentlich kleiner wird, z. B. bei Gelatine nur 16,0, bei Bouillon und Agar nur 8,0 und selbst noch weniger. Im letzteren Falle wäre dann schon mit der Zugabe von 10 ccm Normalsodalösung, wie er entsprechend der Reichsvorschrift für Wasseruntersuchungen nicht bloß bei Gelatine, sondern auch bei Bouillon und Agar gemacht zu werden pflegt, der Phenolphthaleinpunkt nicht unwesentlich überschritten.

b) Durch Austitrierung des Phenolphthaleinpunktes an einer kleinen Probe und Zugabe eines Bruchteils der für das Ganze erforderlichen Menge. Die Austitrierung wird in der Weise vorgenommen, daß man von der warmen bezw. heißen, jedenfalls gut flüssig gemachten Nährlösung 10 g in einem Bechergläschen abwägt und zur möglichsten Aufhellung der die rote Endreaktion störenden Gelbfärbung etwa 50 ccm heißes destilliertes, völlig neutrales Wasser zugibt. Die 10 g müssen abgewogen werden, weil die heiße Lösung in der Pipette nicht genau 10 ccm betragen würde. Dann fügt man das heiße Wasser und einige Tropfen Phenolphthaleinlösung hinzu und titriert mit $^1/_{10}$, zur Kontrolle allenfalls auch noch mit $^1/_{100}$ Normalkalilauge bis zum Auftreten der Rotfärbung. Der Titer wird auf die vorhandene Menge des Nährbodens umgerechnet und nicht ganz so viel Sodalösung zugesetzt. Will man dabei auch auf den Lackmuspunkt prüfen, dann setze man erst Normalkalilauge bis zum Lackmuspunkt zu und ergänze das übrige mit Normalsodalösung.

Würde man z. B. eine Bouillon herstellen wollen, die bis $^1/_2$ oder $^2/_3$ der zum Phenolphthaleinpunkt nötigen Menge Lauge alkalisiert sein soll, so müßte man im oben genannten Falle, wo 20 ccm zum Phenolphthaleinpunkt gebraucht worden waren, entweder 10 ccm oder 13,3 ccm Normalsodalösung zugeben oder erst 8 ccm Normalkalilauge und dann noch 2,0 oder 5,3 ccm Normalsodalösung.

Die **Klärung mit Hühnereiweiß** dient zur Beseitigung oder Vermeidung späterer Trübungen, die das gute Aussehen, aber nicht die Leistungsfähigkeit der Nährböden beeinträchtigen und entweder schon bei der Bereitung, d. h. bei der Filtration, zu bemerken sind oder erst nach dem Erkalten bezw. Erstarren oder aber nach der Wiederflüssigmachung der fertigen Nährböden in der Siedehitze auftreten können.

Das Weiße von 1 bis 2 Eiern wird mit der doppelten Menge kalten Wassers tüchtig geschüttelt, z. B. in einer mit Glasstopfen versehenen Pulverflasche, und die Mischung in die Nährlösung gegossen. Diese muß zuvor auf etwa 50 ° abgekühlt werden! Dann wird sie im Kolben mit dem Eiweiß gehörig durchgeschüttelt und für etwa $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde oder länger (je nach der geringeren oder größeren Flüssigkeitsmenge) in den Dampftopf gestellt.

Es kann auch Albumen ovi siccum genommen werden. Man schüttet nach E. Zettnow (C. 9. 393) 8 g davon in etwa 40 ccm Wasser, damit es sich allmählich auflöse, was durch öfteres Umrühren beschleunigt werden kann, aber immerhin einige Zeit braucht, gibt die Lösung zur Nährflüssigkeit und verfährt wie oben.

Filtration. Nährbouillon und -gelatine wird durch Papier, und zwar durch doppelte Faltenfilter, die vorher angefeuchtet werden

Digitized by Google

müssen, filtriert. Zum Schutz vor Zerreißung empfiehlt es sich, einen Filterschutz (Fig. 91) unten zwischen Trichterwand und Filterspitze einzulegen. Bei Nähragar nimmt man statt Papier Watte, um rascher zum Ziel zu kommen (s. S. 85 und 86). Mit erstarrender Masse versetzte Nährböden müssen immer in der Wärme filtriert werden, Gelatine bei gelinder Wärme, nicht über 60°, Agar mindestens nahe bei Siedetemperatur. Man gebe stets die ganze Menge auf einmal in den Trichter und gieße die ersten ablaufenden Portionen (10 bis 20 ccm) wiederholt zurück. Bei Bouillon und Gelatine ist auf die denkbar geringsten Trübungen zu achten, die oft nur bei günstigsten Licht- und Schattenverhältnissen auffallen. Man muß den Inhalt des Kolbens nicht bloß in der Nähe gegen einen dunkeln Hintergrund (Rockärmel), sondern auch in einigen Metern Entfernung betrachten. Doch sind derartige Trübungen, die sich allerdings nach dem späteren Sterilisieren

Fig. 91.

Fig. 92.

Fig. 93.

Fig. 94.

wesentlich deutlicher bemerkbar machen, lediglich Schönheitsfehler.

Von geheizten Trichtern kann man dreierlei Arten unterscheiden:

Warmwassertrichter, einfachwandig, mit oberer, nach innen ragender Krempe und weitem Hals, in dem ein durchbohrter Gummistopfen zur wasserdichten Einfügung des Ausflußrohrs eines Glas- oder Emailtrichters sitzt; seitlich ist ein Fortsatz angebracht, unter den die Flamme gestellt wird. Das ist die gebräuchlichste und einfachste Form, sie macht am wenigsten Störungen beim Gebrauch und reicht fast für alle Fälle aus (Fig. 93).

Heißwassertrichter, in der Hauptsache dem vorigen ähnlich; die Heizung wird hier durch einen rings um den Trichter gelegten Flammenkranz ermöglicht, wodurch die Erhitzung rascher geht. Die Abdichtung nach unten ist hier (Fig. 92) etwas komplizierter und darum leichter Störungen unterworfen. Man kann sie vermeiden, wenn man den metallenen Teil doppelwandig machen läßt und einen Glas-

Digitized by Google

trichter hineinsetzt; freilich wirkt dann die Hitze nicht direkt, da zwischen Metall- und Glastrichter eine Luftschicht bleibt.

Dampftrichter von Unna (C. 9. 749), namentlich zur Bereitung höher prozentuierter Agarlösung angegeben, schien wegen der Möglichkeit, mit geringem Gasverbrauch unter höherem Drucke rascher zu filtrieren, sehr vorteilhaft; er zeigte aber so mannigfache Störungen beim Gebrauch, daß man ihn meistens wieder verlassen hat. In einer dampfdicht schließenden Hohlkugel mit Ventilhahn sitzt ein Metalltrichter, der zum Schutz der Nährmasse gegen übersprudelndes Wasser einen Deckel haben und unten im Ausführungsstutzen mit Metallkonus gedichtet sein muß; Gummi würde bei der hohen Temperatur bald undicht werden. Der Druck im Trichter gestattet, die Agarmasse durch Kieselgur zu filtrieren; 0,2 bis 0,4 g vorher geglühter Infusorienerde werden dazu in die Filterspitze gebracht, in die zum Schutz gegen Zerreißung ein Filterschutz von Porzellan oder Metall kommt (Fig. 94). Einen auf ähnlichem Prinzip beruhenden Trichter hat E. Funck (C. II. 4. 200) angegeben.

Für die Filtrierung von Agarlösungen sind außerdem mancherlei mehr oder weniger umständliche Vorrichtungen empfohlen worden, wie freiwilliges Absetzenlassen der trübenden Teile in der Hitze und Abschneiden des Bodensatzes von der schließlich erstarrten Säule oder Einstellung in den Dampftopf oder gar in den Autoklaven. Wenn aber von vornherein für gute Auflösung des Agars durch vorherige Quellung und gehöriges Kochen gesorgt ist, und wenn die Agarmasse selbst nicht eine zu strenge Gallerte gibt oder zu stark alkalisiert ist, dann geht die Filtration ohne besondere Schwierigkeit von statten, dauert durch Papier aber immer zu lange.

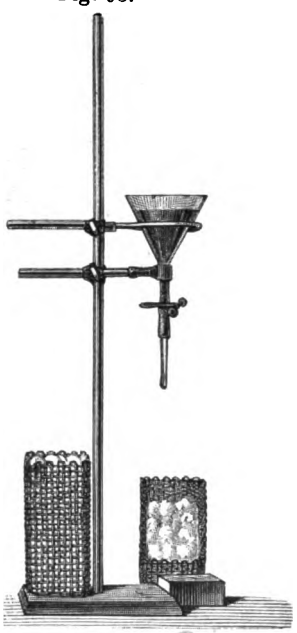
Th. Paul hat Sandfiltration vorgeschlagen, bei der ein Topf mit durchlochtem Boden genommen wird, auf den man zuerst eine Gazeschicht legt, dann folgen immer durch je einen Gazestreifen getrennt: grober Kies, feiner Kies, Sand, feiner Kies, grober Kies. Aber die vorherige Reinigung des Kieses und Sandes mit verdünnter Salzsäure und die Abschlemmung der zu feinen Teile, nicht zum mindesten die Waschung der verschiedenen Schichten nach jedesmaligem Gebrauch ist recht zeitraubend.

Die Filtration durch Watte ist die einfachste und geht am raschesten, dabei wird eine genügende Klärung erzielt. Für gewöhnliche Mengen bis zu 1 l genügt ein kleines Wattebäuschchen von weniger als 1 g Gewicht, das unten in einen Warm- oder Heißwassertrichter gelegt wird. Man hat lediglich dafür zu sorgen, daß es von dem Druck der Flüssigkeit nicht in den Trichterhals hineingezogen wird; das ist leicht durch Unterlage eines runden Stückchens Drahtnetz zu vermeiden (L. Heim, C. 30. 570). Unser Netz hat 49 Maschen in einem Quadratzentimeter und wird entweder uhrschälchenförmig oder über ein Markstück gebogen und im letzteren Falle mit den umgebogenen Enden nach unten in den Trichter gelegt, darauf kommt das Wattebäuschchen derart zu liegen, daß es gleichmäßig ausgebreitet ist und die Ränder des Netzes allseitig bedeckt, damit nicht Flüssigkeit neben durchlaufen kann. Ein durchlochtes Porzellanscheibchen ist nicht zu gebrauchen, denn die Löcher sind zu spärlich und die Watte wird hineingezogen und verstopft sie dann.

Digitized by Google

Für größere Mengen Agar, wie sie in Typhus- und ähnlichen Untersuchungsstellen gebraucht werden, hat v. Drigalski für seinen 3proz. Lackmuslaktoseagar eine wesentlich größere Fläche genommen, nämlich einen Topf mit siebförmig durchlochtem Boden, der auf einen gewöhnlichen anderen Emailtopf paßt und mit einem Reserveemailtopf zugedeckt wird. Auf den Siebboden des erstgenannten Topfes wird eine vierfache Lage nicht entfetteter Watte als Filter gelegt. Die drei in und übereinander gestellten Töpfe werden mit der Agarmasse im Dampfe gehalten.

Fig. 95.



Abfüllvorrichtungen. Wenn es nicht auf die Einfüllung ganz bestimmter Mengen in die Reagenzgläser oder Kölbchen ankommt, nimmt man irgend einen Trichter von Glas oder Emailblech, zieht unten ein kurzes Stückchen Gummischlauch über, an dem ein Quetschhahn sitzt, und steckt ins offene Ende eine Irrigatorspitze oder ein Glasröhrchen. Der Trichter wird, wie Fig. 95 zeigt, an einem Stativ befestigt.

Man hüte sich bei der Abfüllung gelatinierender Flüssigkeiten davor, auch nur ein kleines Tröpfchen an die Stelle des Reagenzglases zu bringen, wo der Wattestopfen sitzt, sonst wird er später in unangenehmer Weise festkleben. Zur Vermeidung nimmt man ein Röhrchen, dessen unteres Ende schräg abgeschnitten ist, und das nahe am Ausfluß ringsum einige Buckeln trägt, wie es K. Knauß bei seinem im übrigen weniger vorteilhaften Abfülltrichter hat anbringen lassen. Eine derartige Schutzvorrichtung ist dadurch zu improvisieren, daß ein Glasröhrchen mit einem Gummiring oder einem etwas weiteren Glasröhrchen umgeben wird (J. J. van Hest, C. 17. 462). Andere Abfüllvorrichtungen beschrieben A. Lode (C. 18. 53), eine mit intermittierender Hebervorrichtung R. Kretz (C. 19. 73); beide sind sterilisierbar, was für Blutserum und andere Flüssigkeiten in Betracht kommt, die nach der Abfüllung nicht im Dampf behandelt werden können. Zu diesem Zweck eignet sich namentlich eine Anordnung von J. Kuprianow (C. 15. 458).

Fig. 96.

Genauere Abmessungen ermöglicht der Abfülltrichter von Treskow (Fig. 96). Der an ihm befindliche Hahn läßt bei der ersten Drehung die Flüssigkeit in das U-förmig abgehende Meßgefäß, bei der nächsten in das untergehaltene Reagenzglas fließen.

Ich habe statt dessen eine Abfüllbürette mit 4 Abteilungen anfertigen lassen, an deren Auslauf ein Röhrchen mit Buckeln ange-

Digitized by Google

setzt ist. Die Bürette hat 18 mm lichte Weite und faßt bei einer Skalenlänge von 47 cm im ganzen 120 ccm Flüssigkeit (abgesehen von dem oberen und unteren nicht mehr graduierten Raum); es sind folgende Teilungen eingeritzt:

auf	der	Vorderseite	120	ccm	geteilt	in	je . .	½ ccm
„	„	Rückseite	17	Zwischenräume		von	je	7 „
„	„	linken Seite	20	„		„	„	6 „
„	„	rechten „	15	„		„	„	8 „

Die **Sterilisierung** der abgefüllten Nährmittel geschieht im Dampftopf vom kräftigen Strömen des Dampfes an gerechnet 40 Minuten lang (s. S. 76). Die gegen Erwärmung empfindliche Gelatine muß rasch gekühlt werden; dazu genügt es, die Röhrchen einzeln in Reagenzglasgestelle zu stellen oder zum Erstarren schräg zu legen. In der warmen Jahreszeit kann man vorher den Korb mit sämtlichen Röhrchen in kaltes Wasser stellen. L. Heydenreich hat dazu einen besonderen Erstarrungskasten angegeben; er besitzt an einer Vertikallinie seines Umfangs mehrere übereinander liegende Oeffnungen von 1 cm Dchm. in 3, 5, 7 u. s. w. cm Höhe. Von der Leitung fließt Wasser ein und durch die Oeffnungen ab, die Tiefe des Wasserstandes wird durch die Freilassung nur einer Oeffnung bestimmt (Z. f. wiss. Mikr. 9. 306).

Die **Aufbewahrung** der fertigen Nährmittel geschehe vor Licht und übermäßiger Feuchtigkeit geschützt. In feuchter Luft siedeln sich

Fig. 97.

Fig. 98.

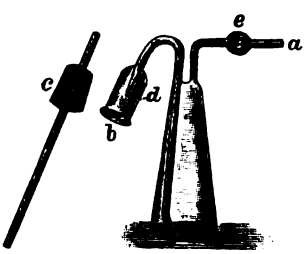


Fig. 99.

leicht Schimmelpilze an den Wattestopfen an und wachsen durch sie in den Inhalt hinein. Reagenzgläser werden in einem Sammelgefäß (Kistchen u. dergl.) aufrecht gestellt. Ein beigelegter Zettel enthalte die Nummer und das Datum für den betreffenden Nährboden.

Um Nährbouillon und andere sterilisierte Flüssigkeiten in größeren Mengen vorrätig zu haben und namentlich auch auf Reisen mitnehmen zu können, füllt man sie in Flaschen mit Patentverschluß, wie sie z. B. für pasteurisierte Milch gebräuchlich sind (Fig. 97). Im Laboratorium genügen, wenn die Aufbewahrung nicht lange Zeit währen soll, große Kolben, deren Inhalt eine entsprechend längere Zeit zur Sterilisierung erfordert. Will man die Möglichkeit schaffen, aus ihnen kleinere Mengen zu beliebiger Zeit zu entnehmen, ohne jedesmal wieder sterilisieren zu müssen, kann man sie in Flaschen der in Fig. 98 u. 99 wiedergegebenen Form abfüllen.

Digitized by Google

Die Flasche der Fig. 98 rührt von R. J. Petri und A. Maaßen her. Sie wird vor der Füllung trocken sterilisiert, dann der Verschlußpfropfen bei a und b entfernt und in b ein Kautschukstöpsel c eingesetzt, der das in die Flüssigkeit tauchende Entnahmerohr trägt. Es wird soweit nach oben verschoben, daß die Ausflußspitze d seinen oberen Teil ausfüllt. Durch sanftes Ansaugen von a her, am besten mit einer Wasserstrahlluftpumpe wird die Flasche gefüllt. Danach wird das Entnahmerohr entfernt, der Watteverschluß auf b und a wieder aufgesetzt und das ganze im strömenden Dampf sterilisiert. In der kleinen Kugel e befindet sich ein Wattebausch als Schutz gegen das Eindringen von Keimen beim Entnehmen von Flüssigkeit. Dazu wird der Watteverschluß bei b entfernt und der Hals des Aufnahmegefäßes in die kleine Glocke bis über die Ausflußspitze d eingeführt. Durch Blasen bei a entleert man die gewünschte Menge und setzt dann bei b den Watteverschluß wieder auf. Der glockenförmige Ansatz bei b schützt die Ausflußspitze gegen Luftstaub (KGA. Arb. 8. 316).

Ein Beispiel für die Selbstherrichtung einer Flasche (oder eines Kolbens) nach diesem Prinzip ist die Anordnung von Th. Paul (Fig. 99). Die Art der Ueberdeckung des Ausflußröhrchens mit einem Schutzzylinder ist dieselbe wie die S. 37 beim Asbestfilter beschriebene.

Allgemeine Regeln. Alle Gebrauchsgegenstände müssen stets im besten Zustande und tadellos rein sein; streng genommen sollten bei der Bereitung der Nährböden nur besonders dafür bestimmte und im Dampf oder in heißer Luft vorher sterilisierte Gefäße verwendet werden. Alle Handhabungen müssen mit der größten Sauberkeit und Genauigkeit vollzogen werden. Dabei hat man aber mit aller Vorsicht Desinfektionsmittel zu vermeiden, es dürfen nicht etwa vorher die Hände in Sublimatlösung u. dergl. getaucht worden sein. Jeder bei der Arbeit gebrauchte Gegenstand muß sogleich danach blank gereinigt und getrocknet wieder an seinen ständigen Platz kommen. Jeder Glaskolben muß auf eine Papierunterlage gestellt werden, was ganz besonders für gelatinierende Lösungen zu merken ist, sonst wird er gelegentlich festgeleimt und beim Wegnehmen sein Boden abgesprengt.

Es sei ferner daran erinnert, daß nur so viel Nährböden auf einmal zu bereiten sind, als man binnen einigen Tagen oder Wochen voraussichtlich aufbrauchen wird; denn die Entwicklung der Bakterien ist in oder auf alten Nährmitteln nicht so günstig wie auf frischen. Das sollen sich insbesondere Anfänger merken, die ohne gehörige Rücksicht auf den Bedarf und die Kosten literweise Nährböden zu bereiten belieben!

Animalische Nährmittel.

Fleischwasser.

1. Zerkleinerung des von Knochen, Sehnen und möglichst von Fett befreiten Fleisches (s. S. 73) in der Hackmaschine.
2. Abwägung der zerkleinerten Masse; Notierung des Gewichts.
3. Uebergießen mit der doppelten Menge Wassers.
4. Entweder bis zum nächsten Tage stehen lassen oder nur 1 Stunde und in diesem Falle danach noch 3 Stunden im Wasserbad bei 60° halten.
5. Das Fleischinfus durch ein Tuch seihen, das Fleisch selbst in ein Tuch einschlagen und tüchtig auspressen.
6. Einstellen in den Dampftopf für etwa $^3/_4$ Stunde vom Strömen des Dampfes an gerechnet.

Digitized by Google

7. Filtrieren durch ein doppeltes Faltenfilter.

8. Nachmessen oder Nachwägen der Menge; allenfalls auf das doppelte Gewicht des Fleisches mit Wasser ergänzen.

9. Abfüllen in einen oder mehrere Kolben geeigneter Größe. Verschluß mit Stopfen aus nicht entfetteter Watte.

10. Sterilisierung im Dampftopf 45 Minuten lang vom Strömen des Dampfes an gerechnet.

Fleischwasser ist ein Infusodekokt von 1 Teil Fleisch auf 2 Teile Wasser. Gewöhnlich nimmt man reines Leitungswasser oder Brunnenwasser, wenn es von besonderen Verunreinigungen und Beimengungen, wie Eisen, Salpetersäure oder salpetriger Säure frei, und nicht zu hart ist. Andernfalls benutze man destilliertes.

Das angegebene Verfahren stammt von F. Loeffler. Nach der ursprünglichen Vorschrift soll man den Aufguß 24 Stunden im Eisschrank stehen lassen; dies gilt mehr für die warme Jahreszeit. Wenn man etwa vorhandene Glykose möglichst beseitigen will, ist es sogar besser, den Anfang der Zersetzung des Fleisches abzuwarten oder gar diese durch Einimpfung von Bact. coli zu beschleunigen (s. bei Gärung). Gefrorenes Fleisch liefert besonders leicht Trübungen in der späteren Nährlösung. Zur Abkürzung kann man, wie in Nr. 4 gesagt, den nur 1 Stunde stehen gelassenen Fleischaufguß im Wasserbad bei 60° 3 Stunden lang ziehen lassen (nach Petri und Maaßen). Die „Anweisung zur Bekämpfung der Cholera“ (Berlin 1904) schreibt als Ersatz des 24stündigen Stehenlassens in der Kälte sogar nur 1stündige Digerierung bei 37° vor.

Beim Filtrieren verfahre man nach S. 84. Trotzdem bilden sich beim Aufbewahren des sterilisierten Filtrats nicht selten Trübungen, und es entsteht allmählich ein Niederschlag, den man gelegentlich abfiltriert. Dann muß natürlich der Inhalt der Flasche, wie auch nach jedem Lüften des Wattestopfens, regelrecht wieder im Dampf sterilisiert werden.

Nährbouillon.

Die Bereitung kann entweder unmittelbar aus dem vom Fleisch abgepreßten Saft oder aus dem bereits gekochten filtrierten und allenfalls steril im Vorrat gehaltenen Fleischwasser geschehen.

1. Fleischwasser 1 l (oder eine geringere Menge) in einen Emailtopf entsprechender Größe geben.

2. Einstellen in einen größeren Topf ins Wasserbad. Flamme anzünden. Gleichzeitig auch den Dampftopf anheizen.

3. Abwägen von Pepton. sicc. 1 % = 10 g } vor dem Hineingeben
und Kochsalz 0,5 % = 5 g } auf Papier mischen.

4. Auflösen dieser Zutaten unter Umrühren in dem etwa 50 bis 60° warmen Fleischwasser, dann Steigern der Temperatur des Wasserbades zum Sieden.

5. Neutralisieren der heißen Lösung mit Natronlauge bis zum Lackmuspunkt. Alkalisieren mit etwa 7 ccm Normalsodalösung (oder mit 1 g kristallisiertem Natriumkarbonat). Je nach dem ursprünglichen Säuregehalte des Fleischwassers oder nach Maßgabe eines bestimmten Zweckes kann man mehr oder weniger Soda nehmen.

Digitized by Google

Oder man titriert erst eine kleine Menge auf den Phenolphthaleinpunkt und setzt dann so viel Normalsodalösung zu, als $^2/_3$ der durch Titrierung ermittelten Menge entspricht (s. S. 83).

6. In den Dampftopf stellen und vom Strömen des Dampfes an gerechnet 45 Minuten darin lassen.

7. Filtrieren durch ein angefeuchtetes doppeltes Faltenfilter nach S. 83 f.

8. Wenn das Filtrat klar ist, abfüllen in sterilisierte Kulturgefäße; für Reagenzröhrchen reichen je 6 ccm.

9. Sterilisierung im Dampftopf 45 Minuten lang.

Nährgelatine.

Sie kann entweder unmittelbar aus dem frisch vom Fleische abgepreßten Wasser oder aus dem gekochten, filtrierten und sterilisiert vorrätig gehaltenen Fleischwasser oder aus der fertigen Nährbouillon hergestellt werden. In letzterem Falle muß selbstverständlich noch einmal neutralisiert und alkalisiert werden; auch wird das Pepton durch die wiederholte Erhitzung verändert.

J. Forster hat zum Zweck der Erzielung einer Nährgelatine mit hohem Schmelzpunkt auf die Notwendigkeit der Vermeidung zu oftmaligen und zu langen Erhitzens hingewiesen (C. 22. 341; vergl. auch S. 76) und darum die Herstellung aus Bouillon empfohlen, weil sie bereits sterilisiert ist und weil dann in der fertigen Nährlösung nur noch die mit den Gelatinetafeln eingebrachten Keime zur Vernichtung übrig bleiben, wozu eine Dampfwirkung von 40 Minuten nötig ist. Wenn man daran Anstoß nimmt, daß man dann eine Nährlösung bekommt, in der das Pepton eine mindestens doppelt so lange Erhitzung durchgemacht hat und dadurch braun geworden, möglicherweise auch in seiner Nährfähigkeit beeinträchtigt worden ist, und wenn man die doppelte Neutralisierung und Alkalisierung vermeiden will, genügt es, auch die Nährgelatine aus dem gekochten, filtrierten und sterilisierten Fleischwasser zu bereiten, denn damit sind die Forderungen Forsters ebenfalls erfüllt bis auf das Pepton und Kochsalz, an denen aber erfahrungsgemäß keine widerstandsfähigeren Keime als in den Gelatinetafeln vorhanden sind.

Da allenfallsige Trübungen in der fertigen Nährgelatine, die man ganz klar zu haben gewohnt ist, Schönheitsfehler sind, umsomehr als sie nicht, wie in der Bouillon, Zeit haben, sich abzusetzen, vielmehr bei der Erstarrung des Substrats ziemlich gleichmäßig in ihm verteilt bleiben, ist man insbesondere hier bestrebt, sie zu vermeiden. Aus diesem Grunde wird bei der Gelatine die Klärung mit Eiweiß gerne gemacht.

Die zu bereitende Menge braucht für nicht sehr ausgedehnten Betrieb 500 ccm nicht zu überschreiten.

1. Fleischwasser (am besten bereits fertig filtriert und sterilisiert), 500 ccm in einen Emailtopf von etwa $^3/_4$ l Inhalt.

2. Gelatinetafeln 10 % = 50 g hineingeben.

3. Einstellen in einen größeren Topf ins Wasserbad. Flamme anzünden und so warm werden lassen, daß das Fleischwasser auf etwa

Digitized by Google

50 bis 60° (nicht mehr!) kommt. Die Gelatine quillt dabei und löst sich langsam auf. Dazwischen umrühren. Gleichzeitig wird der Dampftopf angeheizt.

4. Abwägen von Pepton. sicc. 1 % = 5 g } vor dem Hineingeben
Kochsalz 0,5 % = 2,5 g } auf Papier mischen.

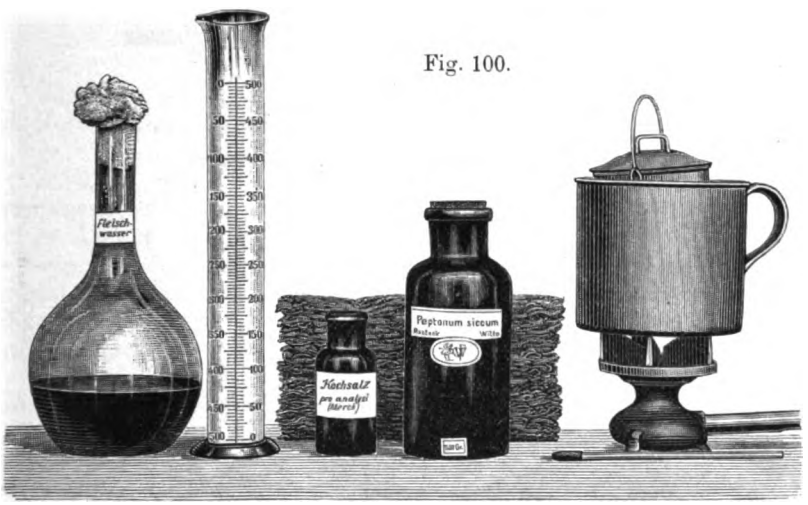
5. Auflösen der Zutaten unter Umrühren. Dann Steigerung der Temperatur des Wasserbades bis zum Sieden.

6. Neutralisierung mit Natronlauge bis zum Lackmuspunkt.

Alkalisierung mit 5 ccm Normalsodalösung (= 0,75 g kristallisierten Natriumkarbonats) oder wie bei Bouillon und S. 83 beschrieben.

7. Abkühlenlassen bis auf 50°; das Weiße von einem Hühnerei (in diesem Falle ist von der Verwendung von Albumen ovi siccum

Fig. 100.



wegen der Möglichkeit etwaigen Keimgehalts abzusehen) nach der S. 83 gegebenen Vorschrift eintragen und gut vermischen.

8. In den bereits heiß gewordenen Dampftopf stellen und vom Wiederausströmen des Dampfes an gerechnet 15 Minuten darin lassen.

9. Filtrierung im Warmwassertrichter, dessen Temperatur nicht über 60° ist. Die ganze Flüssigkeitsmenge auf einmal aufs Filter bringen und die ersten Portionen von etwa je 10 ccm mehrere Male zurückgießen. Das klare Filtrat in einem einzigen Kolben auffangen. Schließlich nochmals durch Umschwenken mischen.

10. In sterilisierte Reagenzröhrchen zu je 8 ccm abfüllen.

11. 40 Minuten im Dampftopf sterilisieren (s. S. 76).

12. Rasch abkühlen lassen (s. S. 87). Dabei werde ein Teil gerade, ein Teil auf einer passenden Unterlage (s. Fig. 104, S. 102) schräg zum Erstarren gebracht.

Nähragar.

Er kann aus frischem oder gekochtem Fleischwasser oder aus Bouillon bereitet werden. Da der Agar bedeutend länger gekocht

Digitized by Google

werden muß als die Gelatine, so empfiehlt sich hier die Bereitung aus fertiger Bouillon am wenigsten; denn das Pepton wird durch die lange Erhitzung zu sehr verändert. Zudem löst sich die Agarmasse in der alkalischen Flüssigkeit schwerer. Das Pepton soll man überhaupt erst zusetzen, wenn die Lösung des Agars vollständig eingetreten ist (s. S. 77), und diese geht im sauern Fleischwasser bei Siedehitze in nicht übermäßig langer Zeit vor sich, wenn man die kleingeschnittenen Agarstückchen vorher mindestens eine, besser mehrere Stunden oder über Nacht hat quellen lassen. Einen nachteiligen Einfluß beginnender Bakterienentwicklung hat man nicht zu fürchten. Bei schwerlöslichen Agarsorten kann die weitere Auflösung durch Kochen über freier Flamme bewerkstelligt werden, wobei man zum Schutze gegen An-

Fig. 101.

brennen eine Asbestscheibe unterlegt und von Zeit zu Zeit den Deckel lüftet, um umzurühren. Dies ist in der Fig. 101 gedacht, wo links vom Kochapparat zwei Sorten Agar, eine in Säulen, eine in Federseelenform, nebst einer Schere zum Zerkleinern hingelegt sind. Wenn man so verfährt, dann muß natürlich später das beim Kochen in nicht unbeträchtlicher Menge dampfförmig weggegangene Wasser ergänzt werden, was durch Wägung des Topfes mit Inhalt vor dem Kochen und nach der Lösung zu geschehen hat und wozu kochendes Wasser genommen werden muß. Man wird der leichteren Lösung halber sogar gut tun, schon vor dem Kochen einen Ueberschuß von Wasser, auf ½ l Flüssigkeit etwa 200 ccm zuzusetzen, denn so viel verdampft mindestens. Bei der Lösung im Dampf fallen diese Umständlichkeiten weg.

1. Fleischwasser 500 ccm.

2. Agar 7,5 g in kleine Stückchen zerschneiden, hineingeben und eine oder mehrere Stunden quellen lassen.

3. Einstellen in den Dampftopf vom Strömen des Dampfes an gerechnet je nach der Löslichkeit der Agarsorte 1 Stunde (für 1 l dieses Agars sind etwa 1½, für 1 l 3proz. Agars [s. S. 95] etwa 3 Stunden zu rechnen).

Digitized by Google

4. Nach vollkommener Lösung Zusatz von Pepton. sicc. 5 g,
Kochsalz 2,5 g,
wenn gelöst,

5. Neutralisieren mit Natronlauge.

Alkalisieren mit Sodalösung, wie bei Bouillon unter Nr. 5 beschrieben, also etwa mit 3,5 ccm Normalsodalösung, für bestimmte Fälle mit mehr oder weniger (s. a. S. 82 f.).

6. Einstellen in den Dampftopf für 45 Minuten.

7. Filtrieren durch Watte (s. S. 85) im Warm- oder Heißwassertrichter bei kochendem Wasser.

8. Abfüllen in sterile Reagenzgläser zu je 8 ccm.

9. Sterilisierung im Dampf 40 Minuten lang. Danach einen Teil der Röhrchen gerade, einen Teil schräg erstarren lassen.

Sonstige Zusätze zu den Nährmitteln.

Glyzerin 2 bis 3 %; namentlich für das Wachstum von Tuberkel- und Rotzbazillen förderlich und viel gebraucht.

Zucker. Gewöhnlich wird Traubenzucker zu 0,5 bis 1 oder 2 % genommen; er begünstigt das Wachstum vieler Mikroorganismen, oft nur im Anfang, später kann er die Entwicklung stören, wenn nämlich die betreffenden Bakterien Säure aus ihm bilden. Sie verhalten sich gegenüber verschiedenen Zuckerarten verschieden (s. auch Gärung). Der Zucker soll erst nach dem Filtrieren der Nährlösung zugesetzt werden, damit er durch die Hitze nicht zu sehr verändert (karamelisiert) wird.

Ameisensaures Natron oder indigschwefelsaures Natron wirkt günstig für die Entwicklung von Anaerobiern (s. S. 145).

Blut als Ganzes oder als Serum (über letzteres s. S. 98 ff.). Das ganze Blut oder bloß die roten Blutkörperchen bezw. das Hämoglobin, auf Nährböden aufgestrichen oder mit ihnen vermischt, lassen manche Bakterien zur Entwicklung kommen, die ohne diesen Zusatz nicht angehen, z. B. die aus der Gruppe der hämophilen, wie die Influenzabazillen u. a.

Ein Tropfen menschliches Blut ist leicht rein zu gewinnen, wenn man in die mit Seifenwasser, Spiritus und Aether gereinigte Fingerbeere mit einer geglühten und wieder erkalteten Nadel einsticht und von der Kuppe des zweiten austretenden Bluttröpfchens mit einer sterilen Platinöse abnimmt, ohne die Haut zu berühren. Man streicht dann das Tröpfchen auf die Agaroberfläche aus. Auch Blut von Tieren ist zu gebrauchen, insbesondere das hämoglobinreiche der Tauben. W. Kruse verteilte das aus der großen Flügelvene steril entnommene Blut mit einem gewöhnlichen, im Dampf sterilisierten Tuschepinsel auf der Oberfläche des in Schälchen ausgegossenen und erstarrten Nähragars (DmW. 94. 514). Besser als das Aufstreichen ist die Verteilung im Nährboden.

Um Blut aus der Taube steril zu gewinnen, müssen die Federn an der betreffenden Stelle abgeschnitten und diese mit einem alkoholfeuchten Wattebausch abgerieben werden. Dem Einstich wird Blut

Digitized by Google

entnommen, soviel als ohne Berührung der Haut zu erlangen ist, und in ein Kölbchen, in dem sich etwa 10 ccm verflüssigten Nähragars befinden, übertragen. Man hält sich außerdem mehrere Röhrchen verflüssigten Agars bei einer Temperatur von nicht über 60° vorrätig und gießt davon so viel in das Blutkölbchen, bis die Farbe eben noch als rötlich zu erkennen ist (E. Czaplewski, C. 32. 667).

Hämoglobin fand R. Pfeiffer bei seinen Studien über die Aetiologie der Influenza als das geeignetste Nährmittel für die von ihm entdeckten Bazillen. Frisch entnommenes Taubenblut wird in einem sterilisierten Glase mit einem großen Ueberschuß sterilisierter 0,85proz. Kochsalzlösung geschüttelt und zur Sedimentierung in den Eisschrank gestellt. Der nach 24 Stunden gebildete feinpulverige Bodensatz von roten Blutkörperchen wird noch 2mal mit Kochsalzlösung in derselben Weise gewaschen, wobei die überstehende Lösung immer fortgegossen wird. Aus den gewaschenen roten Blutkörperchen wird mittels mehrmaligen Gefrierens und Auftauens oder einfacher durch Schütteln mit einer Spur Aether das Hämoglobin in Lösung übergeführt. Der Aether wird im Vakuum bei niederer Temperatur verdampft und die zurückbleibende sehr konzentrierte Hämoglobinlösung durch ein Kieselgurfilter gesaugt, wodurch die Stromata zurückgehalten werden.

Ein Tröpfchen dieser klaren Auflösung des Blutfarbstoffes in 0,85proz. Kochsalzlösung auf Agar gebracht, ermöglicht die Züchtung ebenso wie volles Blut.

Hämatin-Agar zur Züchtung von Influenzabazillen (bei Gegenwart fördernder Keime, wie Staph. pyog. aur. u. a.) haben A. Ghon und W. v. Preyß auf folgende Weise hergestellt: Dem Fleischwasserpeptonagar wird nach der Neutralisierung und vor der Filtration eine größere Menge, gleichgültig wie viel, in Sodalösung gekochten, aber nicht zu stark alkalisch gemachten Rinderblutes zugesetzt, worauf die gut geschüttelte Mischung 2 bis 4 Wochen unfiltriert stehen bleibt, dann erst wieder verflüssigt, filtriert und abgefüllt wird (C. 35. 536).

Gekochter Rinderblutkuchen oder ganzes Rinderblut, mit gleichen Teilen Wassers versetzt und anstatt Fleischwassers zur Bereitung der Nährgelatine genommen, wirkt für Choleravibrionen sehr wachstumsfördernd; die Kolonien werden auf diesem Nährboden in derselben Zeit 3- bis 4mal größer als auf gewöhnlicher Nährgelatine.

50 ccm oder mehr von dem Blutdekokt nebst 4 g Pepton und 2 g Kochsalz auf 200 ccm eines auf Choleravibrionen zu untersuchenden Wassers zur Anreicherung genommen, bringt bei Anwesenheit von Vibrionen ein kräftigeres Häutchen als ohne Blutzusatz (L. Heim, C. 30. 570).

Farbstoffe, seien es Anilin- oder Pflanzenfarbstoffe, sind vielfach benutzt worden, um unterscheidende Merkmale beim Wachstum der oder jener Bakterienarten zu erzielen. Am meisten ist dies zur Unterscheidung der Typhus- von Koli- und ähnlichen Bakterien geschehen. Für praktische Zwecke kommen die nachstehend beschriebenen in Betracht.

Digitized by Google

Gefärbte Nährböden für die Typhusdiagnose.

Lackmuslaktoseagar nach W. v. Drigalski und H. Conradi (ZfH. 39. 283):

A. 1½ kg zerkleinertes Rindfleisch (oder Pferdefleisch) werden mit 2 l Wasser übergossen und bis zum nächsten Tag stehen gelassen.

Das ausgepreßte Fleischwasser 1 Stunde kochen (im Dampftopf), dann filtrieren. (Anstatt Fleischwasser kann auch 1proz. Fleischextraktlösung genommen werden.) Dazu:

Pepton. sicc. Witte 20,0; Nutrose oder Tropon 20,0; Kochsalz 10,0.

1 Stunde kochen; filtrieren.

Dazu zerkleinerter Stangenagar 60,0.

Quellen lassen; dann 3 Stunden kochen (im Dampftopf oder 1 Stunde im Autoklaven).

Schwach alkalisieren; Indikator: Lackmuspapier.

Filtrieren; ½ Stunde kochen.

B. Lackmuslaktoselösung: Die Farbstofflösung wird nach Kubel-Tiemann bereitet; sie ist fertig von C. A. F. Kahlbaum in Berlin zu beziehen (s. S. 79).

Lackmuslösung 260 ccm 10 Minuten kochen, dazu:

Milchzucker (chemisch rein) 30 g; zusammen 15 Minuten kochen.

C. Die heiße Lackmusmilchzuckerlösung zum heißen, flüssigen Nährboden A setzen; gut schütteln; die etwa verschwundene schwach alkalische Reaktion wiederherstellen.

Alkalisieren mit 4 ccm einer heißen, sterilen Lösung von 10 % wasserfreier Soda*) (entspricht 7,5 ccm Normalsodalösung auf 2 l oder 3,8 ccm Normallösung auf 1 l).

D. Kristallviolett B Höchst 0,1 : 100,0 warmen destillierten sterilisierten Wassers.

Von dieser jedesmal frisch bereiteten Lösung werden 20 ccm zu obiger Nährlösung gesetzt.

Mit dem fertigen Lackmuslaktoseagar können sofort Schalen von etwa 20 cm Dchm. (s. bei Typhus) gegossen und in Vorrat gehalten werden, allerdings nicht auf längere Zeit. Die übrige Menge füllt man für längere Aufbewahrung in Kölbchen von je etwa 200 ccm Inhalt; größere Mengen sind zu vermeiden, damit die Erhitzung, die den Milchzucker zersetzt, nicht zu lange angewendet werden muß.

Fuchsinlaktoseagar nach S. Endo (C. 35. 109):

Fleischwasser 1000 ccm (man kann auch 1proz. Fleischextraktlösung nehmen).

Pepton 10 g; Kochsalz 5 g; Agar 30 g.

---

*) Wasserfreie oder kalzinierte Soda hat das Molekulargewicht $Na_2CO_3 = 106$, Kristallsoda $Na_2CO_3 + 10H_2O = 286$; 10 g wasserfreier Soda entsprechen also $106 : 286 = 10 : x$; $x = 27$ g kristallisierter Soda. Kristallsoda ist weniger zu empfehlen, weil sie beim Aufbewahren ihren Gehalt an Kristallwasser verändert.

Ein Liter Normalsodalösung enthält 53 g kalzinierter (wasserfreier) Soda (s. auch S. 78).

Digitized by Google

Den Agar quellen lassen und dann bis zur völligen Lösung im Dampftopf kochen.

Neutralisieren bis zum Lackmuspunkt.

Alkalisieren mit 10 ccm einer 10proz. Sodalösung (= 7 ccm Normalsodalösung [auf Kristallsoda berechnet] zu 1 l).

Kochen, Filtrieren.

Zusatz von chemisch reinem Milchzucker 10 g.

Zusatz von Fuchsin und Natriumsulfit:

Konz. alkohol. Fuchsinlösung (filtriert) . .	5 ccm
10proz. Natriumsulfitlösung	25 „

P. Klinger schreibt dazu vor (KGA. Arb. 24. 35):

10 g kristallisiertes Fuchsin werden mit 100 ccm 96proz. Alkohol genau 20 Stunden (nicht kürzer und nicht länger!) stehen gelassen, dann wird der Alkohol abgegossen.

Das Natriumsulfit darf nicht verwittert sein; die Lösung muß ganz frisch bereitet werden.

Der Nährboden soll farblos sein; ein ganz leichter rosa Ton wird zugelassen, weil sich dann die Typhuskolonien mit einem hellen Hofe umgeben.

Der Nährboden wird in sterile Kölbchen gefüllt und 30 Minuten im Dampftopf sterilisiert (zu lange Erhitzung schadet dem Milchzucker). Beim Gebrauch wird der Inhalt der Kölbchen verflüssigt und in Petrische oder besser in die großen v. Drigalskischen Schalen gegossen.

Der Nährboden ist wesentlich billiger als der vorige. Klinger berechnet den Preis für 2 l v. Drigalski-Conradischen Nährbodens mit Pferdefleisch bereitet auf 4,40 Mk., mit Fleischextrakt auf 3,45 Mk., für 2 l Endoschen Nährbodens dagegen nur zu 1,40 Mk.

Malachitgrünagar nach O. Lentz und J. Tietz (Klin. Jahrb. 14. 495):

1½ kg fettfreies Rindfleisch werden mit 2 l Wasser 16 Stunden lang mazeriert, das Fleischwasser abgepreßt, ½ Stunde gekocht und filtriert.

3 % Agar hinzufügen; quellen lassen und dann 3 Stunden kochen.

1 % Pepton; 0,5 % Kochsalz; 1 % Nutrose (diese kann auch wegbleiben) werden in 250 ccm kalten Wassers unter leichtem Anwärmen gelöst und dann hinzugefügt.

Alkalisieren bis zum Lackmuspunkt gegen Duplitestpapier (s. S. 79), und zwar mit Sodalösung.

1 Stunde kochen. Durch Leinwand (oder Watte) filtrieren.

Der fertige Agar reagiert wieder deutlich sauer.

Abfüllen in kleine Kölbchen von 200 bis 300 ccm Inhalt.

Sterilisieren und zum Gebrauch aufbewahren; kurz vor dem Gebrauch wird Malachitgrünlösung zugesetzt.

Der im Dampftopf verflüssigte Agar wird gegen Duplitestpapier geprüft.

Mit Sodalösung alkalisieren, aber nicht bis zum Lackmuspunkt, der Agar muß vielmehr noch etwas sauer sein: Der violette Streifen des Duplitestpapiers muß noch eben leicht rot gefärbt werden, während der rote Streifen schon deutlich rotviolett erscheint.

Digitized by Google

Auf je 100 ccm heißen Agars wird 1 ccm einer Lösung von Malachitgrün I (Höchst) 1 : 60 Aq. dest. zugesetzt; es entsteht dadurch eine Konzentration von 1 : 6000.

Anstatt Malachitgrün I (Höchst) fanden die Verf. nur noch Malachitgrün kristall. (Höchst) geeignet, dieses muß aber in einer Konzentration von 1 : 22 000 angewendet werden.

Die Lösung von Malachitgrün I 10 : 600 hält sich in gut verschlossenen Flaschen im Zimmer 10 Tage unverändert.

Der fertige Agar wird sofort in Petrischalen in 2 mm dicker Schicht ausgegossen; die Schalen werden gut getrocknet und können einen Tag lang im Eisschrank aufbewahrt werden.

Malachitgrünnährböden nach F. Loeffler (DmW. 06. 289).

Die Färbung geschieht in jedem Falle mit einer 2proz. Lösung von Malachitgrün 120 (Höchst). Es sei betont, daß dieses ein anderes Präparat ist als Malachitgrün I (Höchst). Die Lösung wird mit sterilisiertem destilliertem Wasser hergestellt, darf aber nicht aufgekocht werden.

A. Grünagar: a) Mit Fleischwasser:

Fleischwasser aus Rind-, Schweine- oder Pferdefleisch 1 l.

30 g Agar einweichen und nach Zusatz von 7,5 ccm Normalsalzsäure (zur besseren Auflösung des Agars [vergl. S. 77]) ½ Stunde kochen.

Nach vollständiger Lösung sofort 7,5 ccm Normalkalilauge zugeben.

Neutralisieren auf Lackmus mit Sodalösung.

Alkalisieren mit 5 ccm Normalsodalösung.

1 % Nutrose aus einer vorrätig gehaltenen 10proz. Lösung.

Nochmals aufkochen; in ½ Literflaschen mit Patentverschluß füllen.

Darin an zwei aufeinanderfolgenden Tagen (bei gelockertem Verschluß) mehrere Stunden im Dampftopf kochen und nach Ablöschen der Flamme darin abkühlen lassen, damit sich die unlöslichen Bestandteile zu Boden setzen.

Den klaren Agar vom Bodensatz abgießen.

Zu je 100 g des flüssigen Agars 2 bis 2½ ccm Grünlösung.

Je 15 bis 20 ccm in Petrischalen gießen.

Die Schalen bleiben offen, bis der Agar abgekühlt und erstarrt ist, dann werden sie besät, zugedeckt und umgekehrt in den Brütschrank gestellt.

b) Mit Wasser:

Leitungswasser mit Agar und ½ % Pepton versetzen.

Dazu 2 ccm Grünlösung.

B. Grüngelatine:

Fleischwasser aus 2 kg gehacktem Rindfleisch und 5 l Leitungswasser.

15 % Gelatine = 750 g; 1 % = 50 g Pepton; ½ % = 25 g Kochsalz.

Langsam erwärmen bis zur vollständigen Lösung der Gelatine.

Digitized by Google

45 Minuten kochen; heiß mit Sodalösung für Lackmus neutralisieren; nochmals aufkochen und filtrieren. Zu je 100 ccm hinzufügen:
3 ccm einer doppelt normalen Phosphorsäure.
2 ccm Grünlösung.

C. Flüssige Nährmittel: Es wurden 4 grüne Lösungen angegeben:

	1	2	3	4
Fleischwasser	—	—	—	100
Destilliertes Wasser	100	100	100	mit Kalilauge neutralisiert
Pepton	2	2	—	2
Nutrose	1	1	1	—
Normalkalilauge	1,06	1,5	—	—
Milchzucker	5	5	2	5
Traubenzucker	1	—	—	1
Natriumsulfat	—	—	—	0,5
Kaliumnitrat	—	—	—	2
Kaliumnitrit	—	—	—	1
Grünlösung	3	3	5	3

Vor dem Zusatz der Grünlösung werden die Nährflüssigkeiten kurz aufgekocht und dann auf 40° abgekühlt.

Blutserum.

Dieser Nährboden ist für manche Zwecke unentbehrlich und wird sowohl in flüssigem wie in erstarrtem Zustande verwendet. Sein Eiweißgehalt schließt eine Sterilisierung bei hohen Hitzegraden aus. Serum wird bei 65° fest, ohne an Durchsichtigkeit zu sehr einzubüßen. Am meisten wird das Blut von größeren Schlachttieren, von Rindern, Hammeln und Pferden genommen; für besondere Untersuchungen vom Menschen.

Menschliches Blutserum gewinnt man entweder durch Aderlaß oder nach E. Bumm (DmW. 85. 910) aus Nachgeburten, während der Mutterkuchen noch im Uterus sitzt. Die Schnur wird nach den ersten Atemzügen des Neugeborenen in der gewöhnlichen Weise doppelt unterbunden und durchtrennt, der plazentare Rest mit Sublimat und sterilisiertem Wasser gereinigt, mit den Fingern zusammengedrückt und oberhalb der Unterbindung nochmals durchschnitten. Bringt man jetzt das Ende der Schnur in den Hals eines sterilisierten Glaskölbchens und läßt mit der Kompression nach, so entleeren sich aus der Vene in dickem Strahle 15 bis 20 ccm Blut. Jede weitere Wehe und jeder Druck auf den Uterus treibt viel besser, als es sich mit der Hand ausführen läßt, neue Mengen Blutes in die Vene und von da ins Gefäß. Je nach der Zeit der ersten Unterbindung erhält man auf einmal 40, 60 und mehr Kubikzentimeter Blut. Da das menschliche Blut nicht sehr leicht und zu nicht sehr festem Kuchen gerinnt, ist ein möglichst ruhiger Stand des Gefäßes während 18 bis 24 Stunden

Digitized by Google

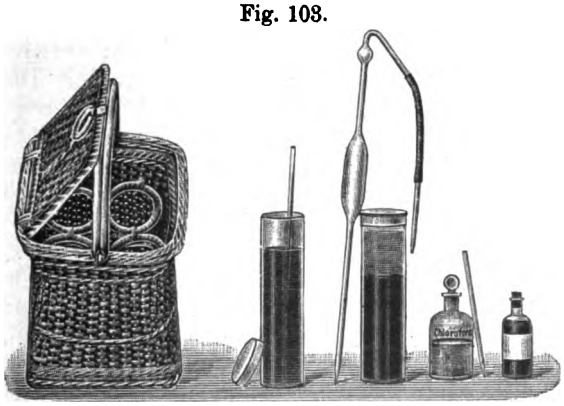
notwendig. Wenn eine richtige Gerinnung zu stande gekommen ist, lassen sich etwa 15 bis 20 ccm klaren Serums abheben.

Aus der Leiche sind größere Mengen vollkommen sterilen Blutes unschwer zu erhalten, wenn man das Herz nach Eröffnung des Thorax mit einer sterilisierten Spritzenkanüle ansticht und das Blut durch Druck mit der Hand in den daran sitzenden Spritzenzylinder eintreibt; das offene weite Ende des genügend groß zu wählenden Zylinders bleibt mit einem Wattepfropfen verschlossen (H. Schottmüller, DmW. 03. 849). Noch größere Mengen erhält man nach G. Hauser: Tunlichst bald nach dem Tode wird in die von dem gewöhnlichen Sektionsschnitt aus freigelegte Vena jugularis ein an dem einen Ende kurz abgebogenes und mit zwei leichten Einschnürungen versehenes Glasrohr (Fig. 102) von etwa 28 ccm Länge und 9 bis 10 mm im Lichten bis in den rechten Vorhof eingeführt und dann an der Stelle der Einschnürung eine feste Ligatur um die Jugularis gelegt. Durch Heben der Extremitäten, allenfalls der ganzen Leiche, sowie durch leichtes Pressen auf das Abdomen gelingt es, große Mengen flüssigen Blutes auslaufen zu lassen, die sofort in weite, bis 80 ccm haltende, mit einem Wattepfropfen versehene und sterilisierte Glasröhren abgefüllt werden. Auf diese Weise kann man bisweilen von einer einzigen Leiche bis über 200 ccm Serum gewinnen, das, unter Chloroformzusatz aufbewahrt, monatelang unverändert konserviert werden kann. Auch Serum von septischen Leichen bleibt vollkommen steril (MmW. 04. 289).

Fig. 102.

Blut von Schlachttieren wird nicht selten bei der Entnahme mit Haaren verunreinigt. Deshalb soll man nach der Eröffnung der

Fig. 103.



Halsschlagader die ersten ausfließenden Mengen nebenhin gehen lassen. Geschächtete Tiere eignen sich nicht, weil nach der Durchschneidung der Luftröhre das Blut leicht verunreinigt, auch schaumig und dann zur Abscheidung des Serums ungeeignet wird.

Digitized by Google

Die zum Auffangen gebräuchlichen hohen Glaszylinder (40 : 8 cm) mit überfallendem Deckel müssen vorher mechanisch mit warmem gekochtem Wasser und ausgekochten Tüchern gründlich gereinigt und mit Spiritus und Aether getrocknet werden. Sie werden zu etwa $^3/_4$ ihrer Höhe mit dem auslaufenden Blut gefüllt und an einem kühlen Ort aufgestellt. Liegt das Laboratorium nicht zu entfernt vom Schlachthof, dann kann man den schonend auszuführenden Transport wagen. Beim Einsetzen der Gerinnung wird ein Glasstab zwischen Blutkuchen und Glaswand (Fig. 103) ringsum geführt, um die Serumabscheidung nicht zu behindern. Nicht immer wird man sie in gewünschter Reichlichkeit erfolgen sehen. A. Latapie hat Drainröhrchen aus Glas in die Flaschen eingelegt, in und an deren seitlichen Löchern der Blutkuchen sich ansetzen kann (AP. 14. 105), doch ist das für unsere Zwecke nicht erforderlich.

Hat sich klares, bernsteingelbes Serum oben abgesetzt, so wird es vorsichtig mit einer Pipette abgehoben. Dazu eignen sich Heber aus Glas oder gewöhnliche Pipetten. Zu empfehlen sind die von H. Geißlers Nachf. in Bonn gelieferten Sicherheitspipetten (s. a. S. 25). Sie werden vorher mit heißer Sodalösung gereinigt und mit Alkohol nachgespült, Dampfsterilisierung vertragen sie nicht gut, Sublimatlösung ist nicht ratsam, es müßte denn sehr reichlich mit Spiritus nachgewaschen werden.

Sobald rote Blutkörperchen aufzusteigen beginnen, muß man mit dem Ansaugen aufhören. Mehr als etwa 100 bis 200 ccm klaren Serums lassen sich aus 1 bis $1^1/_2$ l Blut auf einmal kaum gewinnen. Jedoch können die Entnahmen von demselben Blute an mehreren Tagen hintereinander gemacht werden; erst wenn Bakterienentwicklung (Häutchen an der Oberfläche) eintritt, ist der Entnahme ein Ziel gesteckt.

Wenn man von vornherein steriles Serum bekommen will, ist die Auffangung im Schlachthause nicht zu raten, dann muß man sich schon eigene Tiere (Pferde, Schafe u. s. w.) anschaffen, an denen die Abscherung der Haare und die nötige Hautdesinfektion bequem vorgenommen werden kann. Das Tier braucht nicht getötet zu werden; es wird ein steriler Troikart oder ein geeignetes Glasrohr in eine größere Blutader eingestochen, festgebunden und das ausschließende Blut durch einen sterilisierten Gummischlauch in einen sterilen Kolben geleitet, der nach Art einer Spritzflasche mit Stopfen und Glasröhren versehen ist. Ueber die weitere Technik sei auf die Angaben von J. Kuprianow (C. 15. 458), ferner von F. Kern (C. 25. 75) verwiesen.

Die **Keimfreimachung** vermutlich oder bereits merkbar verunreinigten Serums gelingt durch Filtration; es eignen sich dazu Ton- und Kieselgurfilter nicht so gut als Asbestfilter (s. S. 35 ff.), die bei 2 bis 3 Atmosphären Druck etwa 250 ccm keimfrei filtrierten Serums in etwa 35 Minuten, auch bei dicht gestopftem Asbest, liefern. Einige Eiweiße werden zurückgehalten, am wenigsten in den Asbestfiltern; denn, wie W. Weichardt in einem Versuch mit präzipitin-, sowie mit agglutininhaltigem Serum festgestellt hat, wurden vom Asbestfilter etwa $^2/_3$ der Präzipitine zurückgehalten, Agglutinine weniger. Ob das Blutserum dadurch eine Einbuße als Nährsubstrat erleidet, ist

Digitized by Google

noch nicht ausprobiert worden, jedoch unwahrscheinlich, denn die Erhitzung verändert das Eiweiß noch viel eingreifender.

Zumeist wird die Sterilisation diskontinuierlich bei 58° an 5 bis 6 Tagen je eine Stunde (s. S. 70 f.) vorgenommen und reicht aus, wenn das Serum bereits in kleinen Mengen in Reagenzgläser abgefüllt ist; oder man geht gleich zur Erstarrung über, die bei 65 bis 68° geschieht, dann muß man sich auf einen Verlust von etwa 10% der Proben durch nachträgliche Bakterienentwicklung gefaßt machen.

Sehr gut eignet sich Chloroform (s. S. 72). Es gestattet, auf Monate und Jahre hinaus Blutserum in beliebiger Menge vorrätig zu halten. Man deckt seinen Bedarf 1- oder 2mal im Jahre mit größeren Mengen. Nur das erstmalige Ansetzen erfordert Geduld; denn bis zur endgültigen Sterilisierung vergehen immerhin etwa 2 Monate. Gegen widerstandsfähige Sporen ist das Mittel machtlos.

Das Verfahren ist einfach, viel einfacher als das bei der Bereitung anderer fester und durchsichtiger Nährböden. Eine Anzahl mit Wattepfropf verschlossener Medizinflaschen von 100 ccm Inhalt ist im Trockenschrank bei 160° sterilisiert worden. Nun kochen wir ebensoviele zu ihnen passende Gummistopfen in einem Töpfchen mit durchlochtem Blecheinsatz in destilliertem Wasser aus, nehmen danach mit einer geglühten Pinzette jeden einzeln heraus und stellen ihn, mit der Breitseite nach unten, für einige Augenblicke in den Trockenschrank, dessen Temperatur auf etwa 60° gebracht ist. Die getrockneten Pfropfen fassen wir, ohne sie an der Stelle, mit der sie ins Glas kommen, zu berühren, und drehen sie in den Flaschenhals ein, der von Daumen und Zeigefinger der linken Hand umschlossen gehalten wird. Damit begeben wir uns an den Aufbewahrungsort des Serums, füllen die Fläschchen ziemlich voll und geben dann noch 1 ccm Chloroform zu. Ist der Stopfen wieder aufgesetzt und recht fest eingedreht, so überziehen wir ihn noch mit heißem verflüssigtem Paraffin. Mehrmaliges sanftes Neigen sorgt für Vermischung von Chloroform mit Serum (Löslichkeit etwa 0,6‰).

Soll nach Ablauf von wenigstens 2 Monaten der ganze Inhalt — was selten der Fall — etwa zu einer sogenannten Massenkultur in flüssigem Zustande verwendet werden, dann ersetzt man den Gummistopfen durch den Wattepfropf eines anderen sterilisierten, leeren Gläschens und wartet einige Tage; das Chloroform verflüchtigt allmählich, in viel kürzerer Zeit bei höherer Temperatur, etwa bei 55 bis 60° oder wenigstens bei Brutschrankwärme (Chloroform siedet bei 61°).

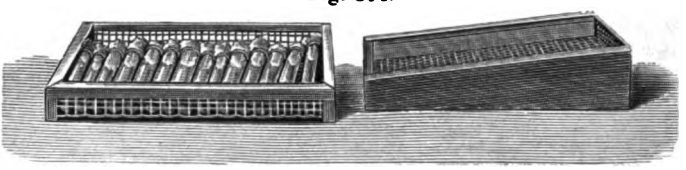
Doch ist dieses Verfahren nicht ganz einwandfrei; denn es können immer noch Spuren von Chloroform oder gewisser im Laufe der Zeit entstandener chemischer Umsetzungsprodukte darin bleiben, die einen wachstumbehindernden Einfluß auf die Bakterien ausüben.

Die Erstarrung wird bei 65 und 68° bewirkt. Dazu wird der Inhalt der Medizinflaschen zu etwa 7 bis 8 ccm in sterilisierte Reagenzröhrchen abgefüllt. Während des Abfüllens wird das Fläschchen stets ruhig in geneigter Lage gehalten, damit der Bodensatz nicht aufwirbelt. Das Reagenzröhrchen aber muß in einen spitzen Winkel zur Flasche gehalten werden, um jede Benetzung seiner Innenwand an der Stelle, wo der Wattepfropf zu sitzen kommt, zu vermeiden.

Digitized by Google

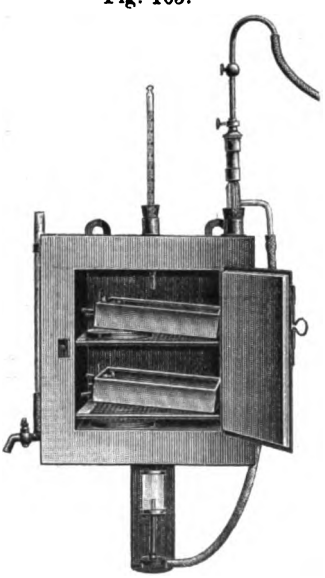
Zur **Erstarrung** des Serums werden die Reagenzgläser schräg gelegt, wozu Gestelle der Fig. 104 geeignet sind; es gibt auch welche, deren Neigung durch einen oder zwei verstellbare Blechfüße verändert

Fig. 104.



werden kann, wie die im Wärmeschrank der Fig. 105 stehenden sie haben. Als solcher kann ein Paraffinschrank dienen, der mit einem Thermometer und einem geeigneten Thermoregulator ausgestattet ist; die Temperatur soll ziemlich genau eingehalten werden und keinesfalls 70° übersteigen. Während der Erhitzung muß die Luft unbedingt feucht gehalten werden, sonst werden die Nährböden durch oberflächliche Austrocknung für manche Züchtungen, z. B. von Tuberkelbazillen, unbrauchbar; man stellt zu diesem Zweck eine oder einige Schälchen mit Wasser hinein. Zur Prüfung der richtigen Konsistenz schlägt man die Röhrchen sanft gegen die Rückseite des Daumens; die Masse darf nicht merklich zittern; ein sterilisierter Platindraht darf sich nicht leicht eindrücken lassen.

Fig. 105.



Nicht alle Serumarten erstarren gleichmäßig rasch. Am langsamsten geht es bei Kälberserum; am besten eignet sich Kälber- und Hammelserum. Gelungenes Serum ist ziemlich durchsichtig, am Grunde der schräg erstarrten Masse sammelt sich ausgepreßtes Wasser. Bei 65 bis 68° geronnenes Blutserum verträgt nach F. Hueppe noch mehrmalige Erwärmung auf 90° und kann dieser Temperatur behufs nachträglicher Sterilisierung ausgesetzt werden. Allein es wird dadurch für gewisse Zwecke ungeeigneter.

Traubenzuckerbouillonserum oder **Loefflersches Serum** hat sich trotz verschiedener Versuche für Modifikationen bis heute als der leistungsfähigste und schließlich einfachste Nährboden für die Diphteriediagnose bewährt. Er kann auch für verschiedene andere Zwecke benutzt werden, doch spart man den Nährboden meist für die Fälle, wo er unbedingt erforderlich ist. Nach der ursprünglichen Vorschrift von F. Loeffler (KGA. Mittlg. 2. 461) werden

3 Teile Kälber- oder Hammelblutserum mit
1 Teil neutralisierter Kalbfleischbouillon vermischt, der
1% Pepton, 0,5% Kochsalz und 1% Traubenzucker zugesetzt sind. Die Mischung läßt man in Reagenzgläschen schräg erstarren.

Digitized by Google

Man kann auch Petrischälchen nehmen. M. Neißer verwendete Rinderblutserum, das bei dem reichlichen Verbrauch in einer Diphtherieuntersuchungsstation etwa nur 8 Tage mit Chloroform aufbewahrt war, und setzte dazu gleiche Teile Traubenzuckerbouillon. Diese soll nicht zu stark alkalisch sein, sonst wird der Nährboden weich und braun. M. Deeleman hat die Grenze des guten Wachstums der Diphtheriebazillen zwischen der Neutralprobe und 1 ccm Normalnatronlauge und das Optimum (allerdings nur bei Agar) bei durchschnittlich 0,44 ccm Normalnatronlauge zu je 100 ccm Nährboden ermittelt; Natronlauge erwies sich besser als Sodalösung (KGA. Arb. 13. 387). Die Erstarrung und Sterilisierung ließ M. Neißer im Dampf und zwar in einem eigens dazu angefertigten Serumofen vor sich gehen. Zur Vermeidung von Schaumblasen wird so langsam angewärmt, daß die Erstarrung vollendet ist, bis das Wasser im Ofen zu kochen beginnt. Da viel Kondenswasser ausgepreßt wird, werden die Schälchen umgekehrt aufbewahrt. Es werden ungefähr so viel zubereitet, als voraussichtlich binnen einer Woche zum Verbrauch kommen (ZfH. 24. 467).

Serumagar. Zu Schälchenkulturen kann man auch nicht erstarrtes Blutserum mit Zuckeragar verwenden. F. Hueppe nahm gleiche Teile (C. 1. 610); man darf übrigens bis auf 1 : 4 heruntergehen; es werden 2 ccm Serum in ein Schälchen gegeben und 8 ccm nicht zu heißer, flüssiger Nähragar darüber gegossen; nach Auflegen des Deckels wird durch wiederholtes sanftes Hinundherneigen gut gemischt.

Eine Agarblutserummischung, die im heißen Wasserbade wie einfacher Agar verflüssigt und dann aus Reagenzröhrchen in Schälchen gegossen wird, ist von A. Tochtermann angegeben worden: Eine Lösung von 2% Agar, 1% Pepton, ½ % Kochsalz, allenfalls mit 0,3 bis 0,5% Traubenzucker wird filtriert und dann ¼ bis ½ Stunde mit Hammelblutserum zu gleichen Teilen oder im Verhältnis von 3 Teilen Serum zu 2 Teilen Agar gekocht. Das Filtrat wird in Reagenzgläsern in der üblichen Weise sterilisiert (C. 18. 552 und 19. 733). Für die Diphtheriediagnose fand dieser Nährboden nicht ungeteilten Beifall.

Ersatz des Blutserums wurde in serösen Ausschwitzungen, Ascites- oder Hydrocelenflüssigkeit zu gewinnen versucht. Manche derartige Exsudate eignen sich besser, manche weniger gut, da ihr Eiweißgehalt und ihre sonstige Zusammensetzung schwankt; hydrocephalisches z. B. fand L. Concetti für Züchtungen überhaupt nicht brauchbar (r. MmW. 98. 246).

Alkalialbuminatlösungen sind in den verschiedensten Zusammensetzungen teils mit Blutserum, teils mit Eiern bereitet worden; in dieser Verbindung ist das Eiweiß beim Kochen nicht fällbar.

a) Alkalialbuminatagar mit Serum nach A. Joos für den Diphtherienachweis (C. 25. 296):

300 ccm Blutserum . . . . } in einem Kolben mit flachem Boden
50 „ Normalnatronlösung . } 2 bis 3 Stunden lang im Wasserbad
150 „ destilliertes Wasser . } von 60 bis 70° erwärmen.

Hierauf in den Dampftopf für 30 bis 45 Minuten.

Digitized by Google

Zugabe einer reichlichen Menge (500 ccm) alkalischer Bouillon mit 2% Pepton und ½% Kochsalz.

In dem Gemisch läßt man 20 g Agar „so rasch als möglich" auflösen.

Nach der Lösung filtrieren und ¼ Stunde bei 100 bis 110° im Autoklaven sterilisieren. Dann eingießen in Petrischalen.

b) Alkalialbuminat mit serösen Ausschwitzungen nach A. Kanthack und J. W. Stephens für den Diphtherienachweis (C. 19. 609):

Die Ascites-, pleuritische u. dergl. Flüssigkeit wird in einem Probiergläschen gekocht. Erstarrt sie dabei, dann muß die ganze Masse mindestens mit der doppelten Menge Wassers verdünnt werden.

Zu je 100 ccm dieser allenfalls verdünnten Flüssigkeit kommen 10% Kalilauge, dazu 1,5 bis 2% Agar, der vorher in angesäuertem Wasser aufgeweicht worden ist.

Im Dampftopf kochen bis zur Lösung; filtrieren.

4 bis 5% Glyzerin zufügen, in Reagenzgläser abfüllen und sterilisieren.

c) Schweineserum mit Kaseinnatriumphosphat nach A. Wassermann für Gonokokkenzüchtung (ZfH. 27. 298):

15 ccm möglichst hämoglobinfreies Schweineserum in einem Erlenmeyerkölbchen mit 30 bis 35 ccm (bei eiweißreichem Serum mit 40 ccm) Wasser verdünnen.

2 bis 3 ccm Glyzerin, sowie 0,8 bis 0,9 g (etwa 2%) Nutrose zusetzen.

Das Ganze gut umschütteln, gleichmäßig verteilen und über der freien Flamme unter stetem Umschütteln zum Kochen erhitzen. Die vorher trübe Flüssigkeit klärt sich dabei und kann nun beliebig lange zwecks Sterilisierung erhitzt werden.

Sterilisieren im Dampf (bei frischem Serum genügen 20 Minuten, bei gestandenem muß man die Sterilisierung diskontinuierlich an mehreren Tagen vornehmen).

Diese Lösung kann unbegrenzt aufgehoben und im Bedarfsfalle zur Herstellung von Platten benutzt werden.

Es wird mit ihr 2proz., schwach alkalischer Nähragar zu gleichen Teilen gemischt und in Petrischalen ausgegossen. Die Temperatur des Agars darf dabei nicht über 50° steigen, und das Gemisch darf nicht mehr zum Sieden erhitzt werden; denn der siedende Agar würde die Eiweißstoffe trotz der Nutrose ausfällen.

Bei Vermischung des Nutroseserums mit Bouillon ist eine nachträgliche Sterilisierung möglich, jedoch darf diese nicht im Dampftopf, sondern sie muß über der freien Flamme erfolgen.

d) Deyckes Alkalialbuminatnährboden mit Fleisch. Nachdem G. Deycke verschiedene Zusammensetzungen angegeben hatte, die schließlich von ihm und Voigtländer im C. 29. 617 in viererlei Vorschriften für verschiedene Bakterien, insbesondere für Diphtheriebazillen mitgeteilt wurden, deren Wiedergabe aber hier zu weit führen würde, hat B. Bosse eine Modifikation ausgearbeitet, die er als Deyckeschen Pepsintrypsinagar bezeichnete und für die Diphtheriediagnose dem Loefflerschen Serum gewachsen fand. Zwar leistet er nach Bosse für die Schnelldiagnose nicht mehr als dieses, aber er vermag durch lebhafte Zurückhaltung des Wachstums der Begleitbakterien, infolge seiner Durchsichtigkeit und bei der typischen Form der Diphtheriekolonien unter Zuhilfenahme der Körnchenfärbung die Diagnose leichter und sicherer zu gestalten. Folgende Herstellungsweise muß peinlich genau eingehalten werden (C. 33. 471):

250 g frischen Pferdeherzfleisches werden mit Pinzette und Schere von allen gröberen Fett- und Sehnenteilen befreit und in der Hackmaschine zerkleinert. Davon werden

125 g abgewogen und

3 g frischesten Pepsins (nicht Pepton!) Witte zugegeben, außerdem:

400 ccm destilliertes Wasser und 2 ccm 50proz. Salzsäure.

Das Ganze in Erlenmeyerkolben bei 37° im Brütschrank künstlich verdauen lassen; während zweier Tage gelegentlich umschütteln; Kontrollierung der Reaktion; allenfalls Zusatz von Salzsäure.

Filtrieren (wegen des Geruchs über Nacht); es bleiben 1 bis 2 Eßlöffel teilweise verdauter Masse auf dem Filter zurück. Mit einer Probe des Filtrats wird die Biuretreaktion vorgenommen, die unter allen Umständen mit Kalilauge und stark verdünntem Kupfersulfat positiv ausfallen muß (Violettfärbung).

Digitized by Google

I. Filtrat mit 3,9 g Natrium carbon. sicc. versetzen und sterilisieren.

II. Herstellung der Trypsinlösung:

Mit dem Messer fein zerschnittenes Schweinepankreas wird für 24 Stunden im Eisschrank gehalten.

Dann Zusatz von 40 ccm reinen Glyzerins und 160 ccm destillierten Wassers.

Einige Tage im Eisschrank stehen lassen. Der ausgepreßte Saft hält sich nach Zusatz von einigen Stückchen Kampfer im Eisschrank unbegrenzt.

Davon 15 ccm mittels steriler Pipette zum sterilisierten Filtrat I.

Mischung genau für 6 Stunden in den Brütschrank bei 37°.

Nach der Herausnahme sofort im Dampf sterilisieren und mit 50proz. Salzsäure neutralisieren.

Zusatz von 1950 g Wasser, 6 g Kochsalz, 39 g Agar.

Die Masse 3 Stunden kochen; im Dampftopf durch Watte filtrieren, in Kölbchen füllen und sterilisieren.

Bei Gebrauch Platten gießen und sie vor der Impfung umgelegt vollkommen trocken werden lassen.

e) Eiereiweißalbuminat nach J. Rosenthal und O. Schultz:

Hühnereiweiß frisch durch Musselin gepreßt . . .	5	ccm
Zum luftblasenfreien Filtrat 1% Natronlauge . . .	2,2	„
sowie nicht alkalisierte Fleischwasserpeptonlösung zu gleichen Teilen mit ½proz. Kochsalzlösung vermischt	2,8	„

Die Masse soll einige Stunden stehen bleiben und unterdessen durch wiederholtes Hinundherneigen (nicht Schütteln) innig vermischt werden; sie wird dann in sterilisierte Reagenzgläser abgefüllt in heißem, nicht siedendem Wasser von 95 bis 98° zum Erstarren gebracht (C. 4. 314).

Eiereiweißalbuminat nach Mourawoff und Kolessnikoff:

Hühnereier wurden mit der Schale 4 Tage lang in 5- bis 10proz. Kalilauge gelegt. Danach war das Eiweiß flüssig-gelatinös und durchsichtig: davon bereiteten sie:

1. Bouillonalbuminat durch Verdünnung mit Wasser 1 : 10;
2. sirupartiges Alkalialbuminat durch Verdünnung mit Wasser 1 : 2;
3. festes Alkalialbuminat ohne Wasserzusatz durch Sterilisierung bei 105° in Reagenzgläsern.

Ließen sie die Eier 14 Tage in der Lauge, dann wurde das Eiweiß, ohne seine Durchsichtigkeit zu verlieren, gelatineartig fest und konnte in feine Scheiben zerschnitten, nach Art der Kartoffelscheiben verwendet werden (Jahresber. 3. 478).

Ueber Eigelbalbuminate und daraus bereitete Nährböden für die Züchtung von Influenzabazillen und anderen Krankheitserregern sei auf M. Nastiukoff r. C. 19. 474 verwiesen.

Ueber Eidotteragar als Gonokokkennährboden s. Steinschneider BkW. 97. 379.

Eier. W. Hesse stach aus frisch gesottenen Eiern Stücke von 1 cm Dchm. aus, die in Reagenzgläsern von 10 mm Weite sterilisiert wurden (ZfH. 11. 238). N. Sakharoff übertrug länglich geschnittene Stücke mit einigen Tropfen destillierten Wassers (zur Vermeidung der Eintrocknung) in die Röhrchen (AP. 92. 451). F. Wesener schüttelte das Ei zur Vermengung von Eiweiß und Dotter, legte es für 30 bis 45 Minuten in Wasser von 75 bis 80°, hierauf zur Abkühlung und äußerlichen Sterilisierung in Sublimatlösung. Nach Abtrocknung und Ablösung der Schale und Entfernung des Häutchens wurden 3 bis 4 Scheiben herausgeschnitten und wie Kartoffelscheiben weiter behandelt (HR. r. 4. 764).

Das Hühnerei im ganzen ist öfters zur Kultur benutzt worden, zuerst von F. Hueppe (C. 4. 80). Man hat aber große Vorsicht walten zu lassen, wenn man sich bei diesem flüssigen und undurchsichtigen Substrat vor Täuschungen bewahren will. Manchmal ent-

Digitized by Google

halten die Eier bereits Keime, die durch unsichtbare Poren der Schale hineingelangt sind. Dringen doch auch Flüssigkeiten in die Eier ein, wenn man sie einige Zeit darin liegen läßt, so z. B. Sublimatlösung, wie man durch Nachbehandlung mit Schwefelammonium sichtbar machen kann. Kurze Zeit mit diesen Lösungen behandelte Eier können zur Kultur verwendet werden. Man sticht mit der Spitze einer geglühten Nadel und durch diese Oeffnung mit dem infizierten Platindraht oder einer solchen Glaskapillare ein, aus der man während des Zurückziehens den Inhalt sachte ausbläst. Der Verschluß geschieht mit steriler Watte und aufgeträufeltem Collodium elasticum oder mit Siegellack.

Fleisch als festen Nährboden empfahl Bockhart (Jahrber. 3. 479); A. Lübbert den Fleischsaft, hergestellt aus Fleisch, das ohne Wasserzusatz im verschlossenen Kolben etwa 4 Stunden im kochenden Wasserbade behandelt, dann koliert und filtriert worden war; 1 kg Fleisch gibt etwa 300 bis 400 ccm tieforangeroten Saft, der nach dem Erkalten zur Gallerte erstarrt; er wird in Kölbchen sterilisiert (Der Staph. pyog. aur., Monographie 1886).

Hirnbrei, für Züchtung von Tuberkelbazillen weder neutralisiert, noch alkalisiert, nach M. Ficker (C. 27. 592):

Hirn wird 2- bis 3mal mit der Hackmaschine zermahlen; mit der gleichen Menge Wassers unter beständigem Umrühren langsam zum Kochen erhitzt und ¼ Stunde im Kochen erhalten.

Durch ein Koliertuch kräftig hindurchdrücken, bis die Gesamtkolatur einen leicht breiigen Charakter annimmt.

In Kolben füllen und 2 Stunden sterilisieren. Davon bei Gebrauch:

a) Serum mit Hirn: Mischung der Kolatur mit gleichen Teilen Pferde- oder Rinderserum, ersteres ist besser. Dazu 3 % Glyzerin setzen, in Röhrchen füllen und bei geeigneter Wärme zur Erstarrung bringen.

b) Agar mit Hirn: 2,5 % Agar werden in destilliertem Wasser gelöst und filtriert; dazu gleiche Teile Hirnkolatur gesetzt, sowie 3 % Glyzerin. In Röhrchen füllen, ½ Stunde im Dampf sterilisieren, dann gut durchschütteln und so rasch erstarren lassen, daß die Hirnflocken nicht sedimentieren können. In ähnlicher Weise kann man auch aus anderen Organen Nährböden herstellen; für das Wachstum der Tuberkelbazillen hat sich der mit Hirn als der beste erwiesen.

Fleischscheiben nach F. Král: 100 g Fleischpulver werden mit 300 ccm peptonisierter Fleischbrühe in einer Porzellanreibschale zu Brei verrieben, dieser zwischen mit Glyzerin befeuchtete, kreisrunde Glasplatten geschichtet, die zu 10 bis 15 übereinander — einer Voltaschen Säule ähnlich — in eine entsprechend hohe und weite Blechbüchse gebracht werden. Die Büchse, die zweckmäßigerweise mit einem Deckel mit sogenanntem Bajonettverschluß versehen ist, wird hierauf mit Bouillon vollgefüllt und mit dem Deckel verschlossen. Die beschickten Glasplatten sollen etwas über den Büchsenrand hervorragen, damit der Deckel sie beim Schließen mit einigem Druck festhält. Die gefüllten Büchsen läßt man 15 Minuten lang im Dampftopf bei 100°, nimmt die Glasplatten mit den fest gewordenen und leicht anhaftenden Fleischscheiben ab und schneidet aus dem gelungensten Teile der Scheiben mittels des Kartoffelbohrers ein kreisrundes Stück heraus. Dieses wird mit einem Spatel von der unteren Glasplatte behutsam abgelöst und in eine

Digitized by Google

Glasdose übertragen. Ist das mit allen Portionen geschehen, dann werden die Dosen im strömenden Dampf mindestens eine Stunde lang sterilisiert. Die Fleischscheiben haben glatte Oberfläche und braune bis gelblichweiße Farbe. Auf keinem anderen Nährboden lassen sich nach Král so eigentümliche, bezeichnende Wachstumsbilder der Fadenpilze der Haut erzielen als auf ihnen.

Reisscheiben bereitete F. Král ohne Bouillon (zur Vermeidung der gelblichen Färbung), für seine besonderen Untersuchungen über Hautmikrophyten folgendermaßen:

100 g Reispulver werden in einer Reibschale mit 250 ccm abgerahmter Kuhmilch innig vermischt, in einer Porzellanschale über einer Flamme unter fortwährendem Bewegen in einen steifen Brei übergeführt und dieser noch heiß mittels eines Hornspatels in einen Kartoffelbohrer (s. S. 108) eingestrichen, ohne daß Zwischenräume entstehen. Nach dem Erkalten schiebt man den so erhaltenen Reiszylinder mit dem Bohrerstempel etwas vor, schneidet mittels eines bogenartig gefaßten, straff angespannten und möglichst dünnen Platindrahtes die unebene Kuppe und demnächst in gleicher Weise Scheiben von 6—7 mm Dicke ab, die man sofort in Glasdosen überträgt. In jede Dose kommen außerdem noch 8 Tropfen Milch, dann wird 1—1½ Stunden im Dampf sterilisiert.

Milchreis nach J. Soyka (DmW. 88. 833). Man nimmt:

Von frisch pulverisiertem Reis 100 Gewichtsteile.
Von einer Mischung aus: 3 Teilen Milch / 1 Teil Bouillon } 210 Maßteile.

Die Masse wird in einer Reibschale gleichmäßig verrieben, mit einer Pipette in Glasschälchen (mit Deckel) gefüllt und sterilisiert.

Milch wie Reis sind vor der Vermischung gesondert keimfrei zu machen, damit die endgültige Sterilisierung in möglichst kurzer Zeit vollzogen ist; dadurch werden Farbenveränderungen und Zersetzungen vermieden.

Vegetabilische Nährmittel.

Kartoffeln.

Trotzdem daß die meisten Bakterien einen alkalischen Nährboden verlangen, ist ihnen doch die Säure der Kartoffel nicht hinderlich und sie wachsen auf diesem Substrat mehr oder weniger üppig, manche mit bezeichnendem Aussehen der Kultur (z. B. Typhusbazillen meist farblos, Choleravibrionen, Rotzbazillen braun). Verlassen kann man sich aber auf das typische Aussehen nicht, ja manche Bakterien erleiden bald die, bald jene Veränderung oder Beeinträchtigung ihres Farbstoffs. Es hängt das, abgesehen von dem Stamm, von der verschiedenen Beschaffenheit der einzelnen Kartoffel, von der Sorte und ihrem Keimungszustand ab. Bei Vergleichsbeobachtungen sollen deshalb nur Knollen derselben Sorte genommen werden, ja noch mehr, man soll einzelne getrennt sterilisierte Teile derselben Kartoffel impfen, sogenannte Parallelkulturen anlegen.

Für die Herrichtung von Kartoffeln sind nötig: Eine Schüssel mit warmem Wasser nebst Bürste, eine Schale mit Sublimatlösung, mehrere Küchenmesser, sogenannte Kartoffelmesser mit Bleibeschwerung im Heft, die entweder in einer passenden Büchse trocken sterilisiert oder kurz vorher in der Flamme, wenn auch nicht zum Glühen gebracht, so doch gehörig abgeflammt werden. Ein Korkbohrer nebst Schärfer (s. Fig. 56, S. 26) und ein Reibeisen.

Der Korkbohrer gehört im vorliegenden Falle zum Ausstechen

Digitized by Google

zylindrischer Stücke, die schräg halbiert in Reagenzgläser gesteckt werden. Zylinder von größerem Durchmesser, die in Scheiben zerlegt und in kleinen Doppelschälchen von etwa 40 mm Dchm. untergebracht werden, gelingen, wenn man sie nicht mit dem Messer schnitzen will, am schönsten mit dem Kartoffelbohrer von F. Král. Es ist ein Zylinder aus Messing von 7 cm Länge; er hat an der schneidenden, mit Facette versehenen Oeffnung etwa 39 mm, an der anderen, mit einem angelöteten Messingdraht als Rand versehenen Oeffnung etwa 41 mm Dchm.; dazu gehört ein passender Stempel zum Herausschieben des ausgestochenen Kartoffelstücks.

Uebereinander passende Schalenpaare von Glas, große, sogenannte feuchte Kammern, von etwa 20 bis 22 cm Dchm. (s. S. 113) und kleine von etwa 4 cm Dchm. der oberen Schale.

A. Halbierte Kartoffeln in feuchten Kammern nach R. Koch.

Völlig gesunde, unverletzte, am besten sogenannte Salatkartoffeln, werden mit einer Bürste unter Wasser gründlich von Erde und Schmutz befreit, die letzten Reste aus den verschiedenen kleinen Vertiefungen und „Augen" mit dem Messer unter Schonung des Oberhäutchens ausgekratzt und nochmals mit reinem Wasser abgespült.

Einlegung in 1promill. Sublimatlösung (kann auch wegbleiben).

Sterilisierung im strömenden Dampf 45 Minuten lang.

Unterdessen Herrichtung der feuchten Kammern: Jede Doppelschale wird mit 1promill. Sublimatlösung ausgespült, der Boden mit einer Scheibe Filtrierpapier bekleidet und mit mehreren Tropfen Sublimatlösung befeuchtet.

Die aus dem Dampf genommenen und etwas abgekühlten Kartoffeln werden der Reihe nach zwischen 2 oder 3 Finger genommen, mit einem frisch abgeflammten, noch warmen Messer mitten durchschnitten und ohne daß die beiden Hälften auseinander genommen werden in die feuchte Kammer gelegt.

Auseinanderklappen der beiden Hälften unter möglichst kurzer Lüftung des Schalendeckels.

In der Regel sollen nicht mehr als 4 halbe Kartoffeln in einer Schale untergebracht werden; jedenfalls ist eine Berührung der Stücke untereinander oder gar der Schnittflächen mit den Fingern zu vermeiden.

Halbierte Kartoffeln werden nur zum augenblicklichen Gebrauch genommen und mittels strichförmiger Impfung besät; die Impfstriche sollen sich $^1/_2$ bis 1 cm vom Rande entfernt halten.

B. Kartoffelscheiben in Doppelschälchen nach E. v. Esmarch.

Die gut gebürsteten und gewaschenen Kartoffeln werden abgeschält und dann nochmals unter der Leitung abgespült.

Zerlegung der Kartoffeln in $^1/_2$ bis 1 cm dicke Scheiben mit abgeflammten Messern; Abrundung nach der Größe der Schälchen.

Nach Einlegung in die Doppelschälchen (4 bis 5 cm Dchm.) 45 Minuten im Dampf sterilisieren.

Digitized by Google

C. Schräg halbierte Kartoffelzylinder in Reagenzgläsern nach M. Bolton, Globig und J. Roux (Fig. 106).

Möglichst große Kartoffeln werden gereinigt und geschält.

Abwaschen unter der Leitung.

Ausstechen zylindrischer Stücke von etwa 4 cm Länge und einer der Weite der Röhrchen entsprechenden Dicke mit einem Korkbohrer.

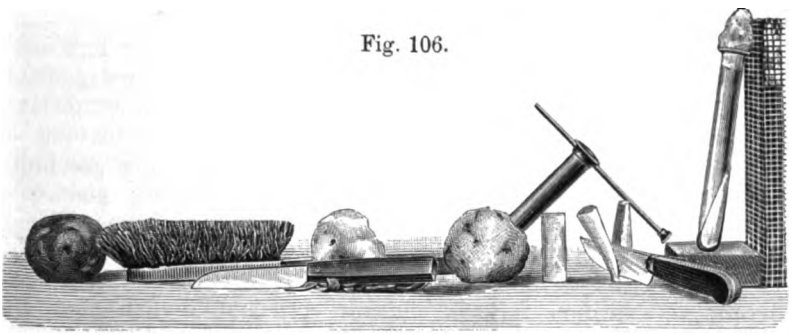
Durchschneidung der Zylinder in der Diagonale; abwaschen.

Jede Hälfte in ein Reagenzglas; Watteverschluß.

Sterilisierung im Dampf 45 Minuten.

J. Roux hat den Reagenzgläsern am unteren Ende eine Einkerbung geben lassen, auf der die Stücke getrennt von etwaigem Kon-

Fig. 106.



denswasser ruhen; sie ist unnötig, da sie durch ein 2 bis 5 cm langes Glasstäbchen ersetzt werden kann, auf das der Kartoffelkeil zu liegen kommt.

Glyzerinkartoffeln, zur Züchtung der Tuberkelbazillen (s. daselbst) vorzüglich geeignet, werden in solchen Röhrchen angelegt. Man füllt so hoch als die Kerbe oder das Glasstäbchen steht, 5- oder 6proz. Glyzerinwasser ein und schiebt die schräg halbierten Kartoffelzylinder darauf. Diese werden vorher in 5proz. Glyzerinwasser eingeweicht oder nach J. Anzilotti in 6proz. Glyzerinwasser, das mit gesättigter Sodalösung alkalisiert ist, so lange (etwa 20 Minuten) gekocht, bis sie ganz weich und stark aufgequollen sind; sollte die Lösung während des Kochens sauer werden, so wird sie sofort wieder alkalisch gemacht (C. 40. 765). Nach Aufsetzen der Wattestopfen werden die Glyzerinkartoffelröhrchen im Autoklaven oder im Dampftopf sterilisiert.

D. Kartoffelbrei und feste Nährböden mit Kartoffelsaft.

Tränkung mit Kochsalz-, Sodalösung u. s. w. läßt sich am leichtesten zu stande bringen, wenn man die geschälten, gekochten und zerriebenen Kartoffeln in Kölbchen füllt und etwas Wasser, in dem das betreffende Mittel gelöst ist, zugibt, so daß ein dicker Brei entsteht.

Kartoffelgelatine und -agar sind zu verschiedenen Zwecken verwendet worden, insbesondere zum Typhusnachweis von M. Holz (ZfH. 8. 143), H. Jaeger (ZfH. 10. 197), von Elsner mit Zusatz von 1 % Jodkalium (ZfH. 21. 25) u. a., haben sich aber keinen dauernden Platz erworben. Herstellung:

Digitized by Google

Wägung der ungeschälten Kartoffeln; Notierung des Gewichts.
Abwaschen, bürsten, schälen, waschen.
Zerkleinerung auf dem Reibeisen (die Berührung mit dem Metall macht die Masse nachher braun; es gibt Reibeplatten von Porzellan).
Mit der doppelten Menge Wasser übergießen.
Einige Stunden oder über Nacht im Eisschrank stehen lassen.
Vom Bodensatz vorsichtig durch ein Seihtuch in ein graduiertes Gefäß abgießen. Ergänzung der Flüssigkeit bis zum ursprünglichen Volum.
1 Stunde in den Dampf.
Filtrieren durch mehrere kleine Filter.
Auflösen von 10% Gelatine in der warmen oder von 1½% Agar in der kochend heißen Flüssigkeit nach vorheriger Quellung.
Neutralisierung nur bei Gelatinezusatz soweit, bis die durch die Gelatine eingebrachte Säure beseitigt ist. In den Dampftopf für 45 Minuten.
Filtrieren durch eine größere Anzahl kleiner Filter, die zeitweilig von der Flamme befächelt werden oder durch Watte.
Abfüllen und sterilisieren.

Andere vegetabilische Nährmittel.

Anstatt der Kartoffel hat F. Král die scheibenförmig geschnittene Zuckerrübe als vorzüglichen Nährboden empfohlen; andere versuchten es mit Mohrrüben, roten Rüben, Aepfeln, Birnen, Bananen, Artischocken, Trüffeln, Champignons u. s. w., ohne daß etwas Besonderes darüber zu sagen wäre, als daß auf der stark sauern gelben Mohrrübe verschiedene farbstoffbildende Arten anfänglich ohne Farbstoff wachsen (H. Marx, r. C. 30. 118) und daß M. Roger die Artischocke nahm, weil manche Bakterien auf ihr mit smaragdgrüner Farbe wachsen, während andere, wie z. B. Typhusbazillen, sie unverändert lassen (r. C. 25. 256).

Für Makkaroni gab G. de Lagerheim (C. 11. 147) folgende Vorschrift:

Möglichst weiße Makkaroni von 5 mm Durchmesser und 3 mm im Lichten werden in Stücke von 4,5 cm zerkleinert und in sterile Reagenzgläser gegeben. Dann gießt man soviel Wasser ein, daß es 1 cm darüber steht, und kocht so lange (etwa ¼ Stunde), bis die Stücke angeschwollen und weich geworden sind, worauf das Wasser vorsichtig abgegossen wird. Nunmehr werden die Gläser mit Wattestopfen versehen und endgültig im Dampf sterilisiert. Danach haben die Makkaroni eine leicht gebogene Form und eine matt glänzende Oberfläche. Farbstoffbildner heben sich gut vom weißen Untergrund ab.

Weiße Oblaten sind ebenfalls für Farbstoffbildner empfehlenswert; man legt sie in Doppelschälchen, befeuchtet sie mit einer Nährlösung und sterilisiert (Schill, C. 5. 337).

Brotbrei. Trockenes schwarzes oder weißes Brot wird von der Rinde befreit, auf dem Reibeisen zerrieben oder zermahlen.

Vom Pulver 25 g in ein Erlenmeyer sches Kölbchen; etwa 15 g destilliertes Wasser darüber gießen; im Dampf sterilisieren.

Pflaumendekokt mit Gelatine oder Agar: 100 g entkernte, getrocknete Backpflaumen werden in 500 ccm Wasser ½ Stunde gekocht, filtriert, das Dekokt wird mit Gelatine oder Agar versetzt, gekocht, filtriert, abgefüllt, sterilisiert.

Bierwürze, die aus Brauereien zu bekommen ist, kann als solche flüssig verwendet werden oder sie wird mit Gelatine oder mit Agar zu einem festen Nährboden verwandelt.

Digitized by Google

Die drei zuletzt genannten Nährböden dienen namentlich für die Kultur von Schimmelpilzen, die auf sauern Medien besser als auf alkalischen gedeihen. Bierwürze eignet sich sehr gut für Hefen.

Aufgüsse von Weizen, Gerste, Roggen, Hafer, Erbsen, Linsen, Bohnen u. s. w. können zu verschiedenen Zwecken mit oder ohne Zusatz von Gelatine oder Agar angewendet werden. Man bereitet einen Aufguß von 1 : 5 Wasser, läßt ihn erst 24 Stunden an einem kühlen Orte stehen und filtriert ab; dann kann man die gewünschten Nährböden herstellen, muß aber des Vorhandenseins sehr widerstandsfähiger Sporen gewärtig sein.

Eiweißfreie Nährmittel.

Sie sind von N. Uschinsky mit Erfolg zur Züchtung verschiedener Bakterienarten verwendet, und es ist dadurch gezeigt worden, daß Bakterienproteine und Gifte auch ohne Eiweiß als Resultat der Synthese entstehen, also nicht Produkte der Zersetzungen von Albuminen sein müssen (C. 14. 316). Eine von ihm angegebene Zusammensetzung ist hier aufgeführt, eine Modifikation von C. Fraenkel nebenhin gesetzt, der außer Glyzerin zwei Salze wegließ, um die entstehenden Trübungen zu vermeiden, ohne den Wert der Nährflüssigkeit zu beeinträchtigen (HR. 4. 769):

	N. Uschinsky	C. Fraenkel
Wasser	1000,0	1000,0
Glyzerin	30—40	—
Chlornatrium	5	5
Dikaliumphosphat	2—2,5	2
Ammonium lacticum . . .	6—7	6
Natrium asparaginicum . .	3,4	4 käufl. Asparagin
Chlorcalcium	0,1	alkalisieren mit geringen Mengen verdünnter Natronlauge.
Magnesiumsulfat	0,2—0,4	—

Anwendung der Nährmittel zur Trennung und Weiterzüchtung von Kleinwesen.

Die vorhin beschriebenen Nährböden benutzen wir einerseits zur Isolierung der Mikroorganismen, anderseits zur Weiterzüchtung der danach erhaltenen Reinkulturen.

Solche lassen sich selbst auf Kartoffeln durch Ausstreichung eines Gemisches von Kleinwesen erzielen: ein geglühtes (altes) Skalpell verreibt eine kleine Menge des Gemisches auf der Oberfläche der ersten von mehreren halbierten Kartoffeln; mit demselben Skalpell bestreicht man — stets einen Randsaum von etwa ½ cm freilassend — der Reihe nach eine zweite und dritte etc. Die Keime werden so immer dünner gesät und schon auf der vierten und fünften Kartoffel stehen nach erfolgter Entwicklung die Ansiedlungen derart vereinzelt, daß man eine oder die andere bequem mit dem spitzen Platindraht abnehmen kann. Namentlich Farbstoffbildner sind leicht zu erkennen. Allein nie ist man sicher, ob nicht unter oder dicht neben, selbst innerhalb der ins Auge gefaßten Kolonie eine andere, kleine vorhanden ist, die sich der

Digitized by Google

Betrachtung mit bloßem Auge entzieht. Ein endgültiger Entscheid ließe sich da bloß durch das Mikroskop erbringen. Indessen steht dem die Undurchsichtigkeit des Grundes im Wege.

Gerade in der Möglichkeit der Trennung unter gleichzeitiger mikroskopischer Kontrolle des isolierten Standes und der Reinheit der Kolonien liegt der Schwerpunkt und der große Vorteil des festen, durchsichtigen Nährbodens.

Im Reagenzglas schräg erstarrt gewährt er bereits die Möglichkeit der Erreichung des Zieles. Wurde das Impfmaterial auf der Oberfläche schräg erstarrten Nähragars oder Blutserums der Reihe nach in 4 bis 6 Reagenzröhrchen ausgestrichen, dann kann man schon nach wenig Tagen in der oberen Hälfte, wo die Schicht dünner ist, das Aussehen der Kolonien unter Verwendung eines schwachen Trockensystems mit weitem Fokalabstand studieren.

Weitaus besser aber eignen sich dazu Schälchen von etwa 8 bis 10 cm Dchm., in die der Nähragar ausgegossen wurde (S. 114).

Zur Trennung aller Kleinwesen, die bei Zimmertemperatur und auf Nährgelatine fortkommen, gibt es nichts Geeigneteres als diese. Außer durch ihre Klarheit und Durchsichtigkeit, worin sie kaum von einem anderen Züchtungsmittel erreicht, sicher nicht übertroffen wird, zeichnet sie sich dadurch aus, daß sie gut an der Glasunterlage haftet, bei Wärmegraden (25 bis 35°), die dem Leben der Bakterien nicht hinderlich sind, leicht zu verflüssigen ist und schon bei etwa 23 bis 24° C. wieder starr wird, einer Temperatur, unterhalb der die Mehrzahl der nicht pathogenen und selbst eine Reihe der krankheiterregenden Bakterien gut zu gedeihen in der Lage ist.

Das Plattenverfahren.

Nach R. Kochs Vorgang ziehen wir von diesem Umstand reichlichen Nutzen. Wir bringen das Impfmaterial zur Trennung verschiedenartiger Keime für gewöhnlich nicht strichförmig auf die Oberfläche, sondern vermischen und verteilen das Material recht sorgfältig und ausgiebig in dem verflüssigten Mittel und breiten es dann in dünner Schicht auf eine verhältnismäßig große Fläche aus, wo die erstarrende Nährgelatine die Keime in der eben eingenommenen Lage fixiert und sie so an bestimmten Stellen und vereinzelt zur Entwicklung kommen läßt.

Gerätschaften (außer den schon früher beschriebenen):

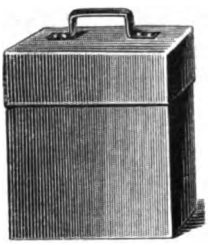
Glasplatten, 1 mm dick, von jedem Glaser leicht erhältlich. Die gebräuchliche Größe von 9 × 12 cm ist bei kleinen Mikroskopen nicht verwendbar, wenn der Objekttisch nicht die erforderliche Größe hat, so daß man bis zur Mitte der Platte alle Punkte unter das Objektiv bringen kann. Für schmälere Objekttische würde man Platten von geringerem Breitendurchmesser dagegen entsprechend länger schneiden lassen.

Büchsen (Taschen), von Eisenblech gefalzt und genietet, mit überfallendem Deckel versehen, so daß nirgendwo Staub einzudringen vermag, dienen zur Aufnahme der Platten während und nach der halb-

Digitized by Google

stündigen Erhitzung auf 160° im Trockenschrank. Ihre Ausmaße sollen denen der Platten möglichst angemessen sein, damit sie nicht zu viel Raum im Sterilisierungsapparat wegnehmen. Aus dem gleichen Grunde verzichtet man lieber auf die am Deckel meist angebrachte Handhabe (Fig. 107 und 82, S. 64).

Fig. 107.



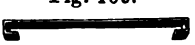
Glasbänke oder **Blechbänke** tragen die der feuchten Kammer übergebenen Platten. Von den teuern und dabei unpraktischen Bänken aus einem Stück Glas mit umgebogenen Rändern der Schmalseite, wie sie Fig. 108b zeigt, sehe man ab und fertige lieber selbst welche aus Glasplatten von etwa 55 × 140 mm Größe (Fig. 108a), unter deren beiden Schmalseiten 55 mm lange, 8 mm hohe und etwa ebenso breite Glasleisten (bei jedem Glaser zu bekommen) angesiegelt werden. Dazu wird die Glasplatte über der Flamme erwärmt,

Fig. 108.

a b

mit heißem Siegellack bestrichen und an die gleichfalls erwärmten Glasleisten gedrückt. Nach jedesmaligem Gebrauch werden diese Glasbänke zur Sterilisierung in 1- bis 2promill. Sublimatlösung gelegt, ebenso kurz vor der Verwendung, und dann mit Wasser abgespült und getrocknet.

Fig. 109.



Blechbänke sind ihnen noch vorzuziehen, weil sie ausgekocht werden können. Die 55 × 130 × 8 mm großen Bänke aus Eisen- oder Zinkblech, deren eine in seitlicher Ansicht in der Fig. 109 wiedergegeben ist, kann jeder

Fig. 110.

a b c

Klempner schneiden oder biegen. Sie dürfen nicht mit Sublimat in Berührung kommen.

Doppelschalen. Zweierlei Sorten sind nötig, große und kleine. Die großen gehören zur Aufbewahrung der Kulturen auf Platten, es sind die sogenannten **feuchten Kammern** (Fig. 110). Von den drei verschiedenen Mustern sind die mit überfallendem Deckel (22 cm Dchm.) vorzuziehen; im allgemeinen solche ohne Knopf, um mehrere aufeinander stellen zu können. Die Luft in diesen Kammern wird durch Einlage von angefeuchtetem Fließpapier bis nahe zu ihrem Taupunkt gebracht.

Digitized by Google

Im Notfalle lassen sich die Doppelschalen durch zwei übereinander gestülpte Teller, von denen der untere mit angefeuchtetem Fließpapier bekleidet ist, ersetzen. Bänke sind dann nicht nötig; zwischen jedem Tellerpaar hat nur eine Platte Platz.

Kulturschalen, kleine Doppelschalen von 9 bis 10 cm Durchmesser sind jetzt anstatt der Platten fast ausschließlich in Gebrauch. Diese sogenannten Petrischalen sind für den von der Unterlage leicht abgleitenden Agarnährboden unentbehrlich. So eben wie Platten sind

Fig. 111.

Fig. 112.

sie allerdings nicht und die Nährbodenschicht ist darum nicht durchaus in gleich dicker Schicht auf ihrem Boden ausgebreitet, wodurch bei Auszählung nach Gesichtsfeldern kleine Fehler entstehen, die aber in der Durchschnittsrechnung so ziemlich wieder ausgeglichen werden. Schalen mit genau ebenem Boden sind teuer; man bekommt solche in viereckiger Form nach den Angaben von M. Lunkewicz (C. 15. 42) bei Leyboldt in Köln (C. 25. 256).

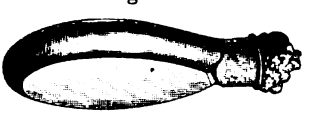
Für Reisen eignen sich Schalenpaare nach Art der Glasdosen mit einem Falz an der Seitenwand, so daß die Deckschale die untere nicht überragt; das Paar wird durch ein umgelegtes Gummiband zusammengehalten (Fig. 111).

Für gewisse Zwecke, namentlich bei Typhusuntersuchungen, werden die großen flachen Doppelschalen von etwa 20 cm Durchmesser und 23 mm Höhe nach W. v. Drigalski und H. Conradi viel gebraucht.

Die Sterilisierung erfolgt im Trockenschrank bei 160°. Mangels eines solchen kann man die Erhitzung im Ofen oder über der freien Flamme vornehmen; bei dieser etwas umständlichen Sache muß man zunächst immer abwarten, bis das aus der Flamme an der noch kühlen Schale sich niederschlagende Wasser wieder verdunstet ist; danach wird die sehr heiße Schale umgekehrt auf mehrfache Lagen Filtrierpapier zum Abkühlen gelegt, dann in den Deckel gestellt, der nicht eigens geglüht zu sein braucht. Es gibt Schalen mit schrägen Wänden, die das Glühen besser vertragen; solche haben G. Krönig (Fig. 112) und später R. J. Petri

Fig. 113.

Fig. 114.



(C. 28. 79) angegeben; letztere haben einen Deckel von gelbbrauner Farbe mit randständigem Ringwulst, damit das andere darauf gestellte Schalenpaar einen Halt hat, beides überflüssige Dinge. Beim Erhitzen mit Spiritusflamme kommt leicht ein Anflug von Ruß, der nach der Eingießung des Nährmaterials in diesem verteilt wird und bei der späteren mikroskopischen Durchmusterung etwas stören kann.

Kulturflaschen haben den Zweck, Luftverunreinigungen möglichst auszuschließen. Fig. 113 zeigt die Flaschenkölbchen nach J. Petruschky, Fig. 114 die etwas größeren nach W. Kolle, die außer-

Digitized by Google

dem noch einen breiteren Halsteil haben; beide sind am Halse mit einer nach innen vorspringenden Querleiste versehen, die das Nährmaterial von der Berührung mit dem Stopfen abhalten soll.

Nivellier- und Kühlapparate waren früher, als man noch viel mit Platten arbeitete, kaum zu entbehren; bei den Schälchen sind sie nicht unbedingt nötig, immerhin aber erwünscht, namentlich um für spätere Keimzählungen eine völlig wagrechte, somit gleich dicke Schicht zu haben und in der warmen Jahreszeit nicht zu lange auf die Erstarrung der Gelatine warten zu müssen.

Die Fig. 115 stellt die gebräuchlichste Vorrichtung mit eingesetzter Libelle dar. Zum Gebrauch wird die Glocke und die Glasplatte ab-

Fig. 115.

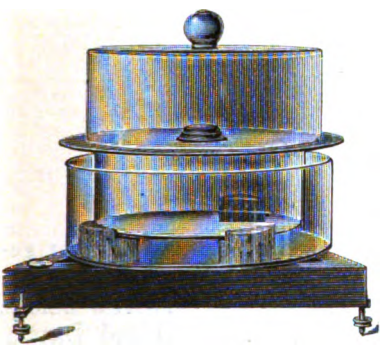


Fig. 116.

genommen und die darunter stehende Schale mit Eisstücken und frischem Wasser bis zum Ueberlaufen gefüllt, hierauf die Glasplatte langsam darüber geschoben (nicht gedeckt!), damit Luftblasen möglichst vermieden werden. Für das Ueberlaufwasser ist die untere Schale da. Dann setzt man die Dosenlibelle mitten auf die Platte und dreht die Stellschrauben am Holzgestell, bis ihre Luftblase genau in die Mitte einspielt. Danach wird die Libelle beiseite gestellt und die Glasglocke aufgesetzt, wenn Platten gegossen werden sollen; für Petrischälchen ist sie entbehrlich.

Wenn zwar nicht Eis, wohl aber kaltes Wasser zur Verfügung steht, kann man nach A. Pfeiffer einen flachen Kasten von Blech mit Eingießöffnung von etwa 20 cm Länge und 15 bis 20 mm Höhe nehmen. Besser ist es, wenn der Kasten auch noch Ausflußstutzen zur Durchleitung von Wasser besitzt, wie z. B. der in Fig. 116 abgebildete von L. Heydenreich, der ursprünglich zum Auflegen auf die Deckel der nebeneinanderliegenden Schälchen bestimmt war, um die Kälte von oben wirken zu lassen; seine Höhe beträgt 8 bis 9 cm (Z. f. wiss. Mikr. 9. 306).

Anlegung von Gelatineplatten.

Zur Isolierung einzelner Keime aus einem Bakteriengemenge vermischt man eine kleine Menge davon in einem Röhrchen mit verflüssigter Nährgelatine, überträgt daraus einige Tropfen in ein zweites,

Digitized by Google

von diesem abermals mehrere Tropfen in ein drittes Röhrchen, mischt, schüttet den Inhalt auf drei Platten oder in drei Schälchen und breitet so die Nährmittel zu einer dünnen, flachen und genügend großen Schichte aus, um mit zunehmender Verdünnung eine immer weitergehende Auseinanderlagerung und Trennung der Keime zu erzielen.

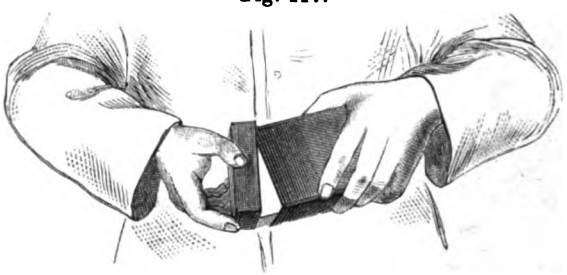
Ausführung dieser Methode von R. Koch:

Füllung und Nivellierung des Gießapparates (Fig. 115).

Verflüssigung der Gelatine in drei Röhrchen im warmen Wasser (30 bis 40°).

Herrichtung der feuchten Kammer. Auf den Boden einer

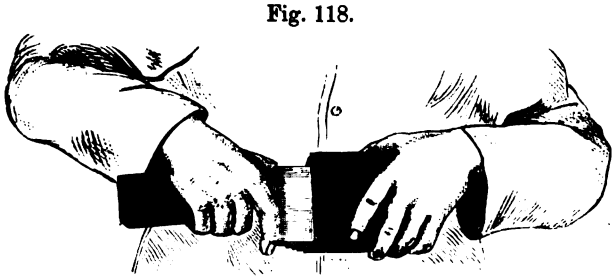
Fig. 117.



Doppelschale (Fig. 110) wird eine passende Scheibe Filtrierpapier gelegt und mit 1- bis 2promill. Sublimatlösung befeuchtet.

Drei Glasbänke (Fig. 108a) werden mit Papierstreifen belegt, worauf verzeichnet ist: Impfmaterial, Verdünnung I, II, III und Datum.

Fig. 118.



Von diesen wird jetzt nur die mit Zettel Nr. I belegte Bank in die feuchte Kammer gestellt.

Vorsichtige Herausnahme von drei Glasplatten aus der gefüllten, bei 160° im Trockenschrank ½ Stunde sterilisierten Blechtasche und Uebertragung auf den Kühlapparat unter die Glasglocke.

Beim Oeffnen wird die Kapsel leicht schräg abwärts gehalten, bis die Glasplatten etwas heraussehen, sie werden durch den gegengehaltenen Deckel am Herausfallen verhindert (Fig. 117). Die Finger dürfen die in der Tasche bleibenden Platten keinesfalls berühren; nur Daumen und Zeigefinger fassen die weitest vorgerückten drei oberen Platten an den Kanten und ziehen sie heraus. Der von der Blechbüchse genommene Deckel wird dabei mit den drei letzten Fingern in der Hohlhand (Fig. 118) oder am Bügel, wenn er vorhanden, gefaßt.

Dann kommt er wieder auf die Büchse. Die drei Platten werden auf die gekühlte Scheibe unter die Glasglocke gelegt.

Digitized by Google

Impfung des ersten Gelatineröhrchens. Es wird zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand, deren Fläche nach oben sieht, gelegt, der Wattepfropf herausgedreht und zwischen 3. und 4. Finger derselben Hand gegeben, derart, daß er nach unten steht und der im Glas gewesene Teil nicht mit der Haut in Berührung kommt (ähnlich wie bei der II. Verdünnung beschrieben; Fig. 119).

Eintragung des Impfmaterials mit Platindraht oder -Oese.

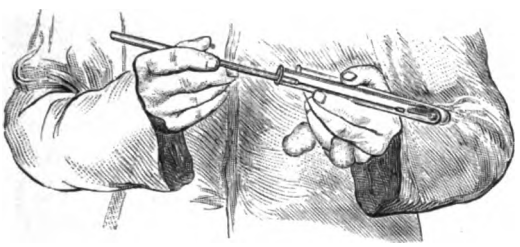
Gleichmäßige Vermischung mit der verflüssigten Gelatine.

Dünnflüssiges Material wird mit der Oese an die Innenwand des Reagenzglases, und zwar etwas oberhalb der verflüssigten Gelatine abgetupft.

Etwas zähflüssigere oder schleimige Massen werden dort erst ausgestrichen, durch Verreibung mit der Oese fein verteilt und allmählich in die Gelatine gespült.

Körperliche, weiche Bestandteile, Organe u. dergl. müssen mit sterilisierten Instrumenten zerstückelt werden: nur ein sehr kleines Teilchen wird eingetragen

Fig. 119.



und an der Reagenzglaswand durch Drücken mit einem stärkeren Platindraht, so gut es geht, ausgequetscht.

Feste, harte Dinge werden zunächst zwischen sterilisierten Skalpellen, Glasplatten u. dergl. zerdrückt, die einzelnen Stückchen mit geglühtem Platindraht oder -öse eingetragen und gleichmäßig in der Gelatine verteilt.

Aufsetzen des Wattepfropfens.

Oftmaliges, 30 bis 100maliges, sanftes Neigen unter gleichzeitigen drehenden Bewegungen des Röhrchens mit der Vorsicht, daß weder reichliche Luftblasen in der Gelatine entstehen, noch der Wattepfropfen mit ihr in Berührung tritt. Auch soll der obere Rand des Röhrchens außen möglichst unberührt bleiben.

Bezeichnung des Glases mit I mit blauem Glasstift.

Ist man sicher, daß die Mischung im Glas I recht gründlich erfolgt ist, dann schreitet man zur Anlegung der II. und III. Verdünnung. Die beiden Reagenzgläser — Nr. I und ein neues — werden zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand, deren Fläche nach oben sieht, so gelegt, daß sich die Wattestopfen über der Mitte der Hohlhand befinden.

Ausglühen der Platinöse.

Abnahme der Wattestopfen; der Stopfen von Glas I kommt zwischen 3. und 4., der des neuen Glases zwischen 4. und 5. Finger (Fig. 119).

Flüchtiges Absengen der am Rande der Röhrchen etwa hängen gebliebenen Wattefäserchen in der Flamme (die Gläser bleiben dabei in ihrer Lage).

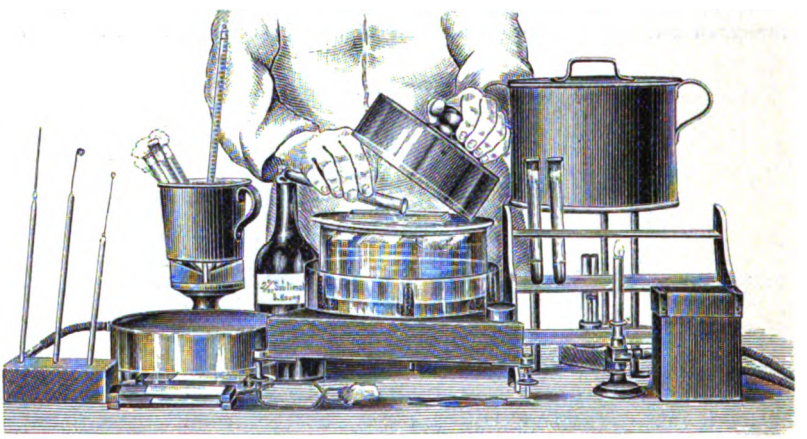
Digitized by Google

Aus Glas Nr. I werden zwei oder drei Platinösen entnommen (je nach der Menge der zu erwartenden Keime, über die man sich schon vorher durch ein mikroskopisches gefärbtes Präparat Aufschluß zu verschaffen gesucht hat).

Sofortige Uebertragung ins neue Glas. Die Oese wird durch sanftes Betupfen der Glaswand jedesmal ihres gesamten Inhalts entledigt und zum Schluß in der verflüssigten Gelatine durch wiederholtes Eintauchen abgespült, nochmals an der Glaswand abgetupft und völlig leer herausgezogen, dann aber alsbald ausgeglüht beiseite gestellt.

Aufsetzen der Wattepfropfen auf die beiden zugehörigen Röhrchen.

Fig. 120.



Gründliche Mischung der an der Wand haftenden Tröpfchen mit der Gelatine durch häufiges Neigen und Drehen, wie das erste Mal.

Bezeichnung des Glases mit Nr. II.

In derselben Weise wird die III. Verdünnung aus dem II. Glas angelegt, nur mit doppelt so viel Platinösen, wie von I in II, also mit vier oder sechs Platinösen.

Eine IV. Verdünnung ist bloß bei sehr keimreichem Ausgangsmaterial angezeigt; sie wird mit etwa acht Platinösen gemacht.

Aufstellung der geimpften Röhrchen in einem Gestell.

Das Gießen. Glas I wird unten mit einem Tuch von etwa noch anhaftendem Wasser befreit (was namentlich nötig ist, wenn die unterdessen vielleicht starr gewordene Gelatine im Wasserbade nochmals verflüssigt werden mußte), dann noch ein paarmal behufs Mischung geneigt, der Wattepfropf unter drehender Bewegung herausgezogen und sofort in einen bereitstehenden leeren Topf geworfen.

Der obere Rand des stets schräg gehaltenen Röhrchens wird etwa 10 Sekunden lang unter Drehen in der Flamme abgesengt und einige Augenblicke abkühlen gelassen.

Die linke Hand faßt die Glocke des Gießapparates am Knopf, klappt sie mit nur einer Seite auf, die rechte führt das Reagenzglas unter die Glocke und schüttet den Inhalt auf die Platte (Fig. 120).

Digitized by Google

Zunächst sachte in die Mitte, dann taucht der vom Abglühen her noch sterile Rand des Röhrchens ein und verteilt die Gelatine zu einem Rechteck so auf der Platte, daß sie sich allseitig etwa 1 cm vom Rand entfernt hält.

Manchmal sind die Platten nicht vollständig eben; dann gleiten sie aufeinander herum; in solchem Falle muß die Glasglocke beiseite gestellt werden, damit zwei Finger der linken Hand die Platte während des Ausgießens am Rande festhalten. Wenn auch die Glocke alsbald wieder darüber gesetzt wird, ist doch die Möglichkeit gegeben gewesen, daß sich mehrere Luftkeime auf die Gelatine niedergesenkt haben. Für die Beurteilung des Ergebnisses bringt das meist keinen Nachteil.

Das leere Reagenzglas wird sofort in den bereitstehenden Topf zum späteren Auskochen gelegt.

Während man das Starrwerden der Gelatine abwartet, bringt man die feuchte Kammer nahe an den Gießapparat heran.

Ist man nicht sicher, ob unterdessen die Gelatine erstarrt ist, so darf man die Glocke etwas lüften und mit einer ausgeglühten und wieder erkalteten Platinöse prüfend betasten; diese wird sogleich wieder sterilisiert.

Ist die Gelatine fest, dann wird die Platte rasch, aber ruhig vom Gießapparat in die feuchte Kammer übertragen.

Nun setzt man schnell noch die nächste Glasbank mit Zettel Nr. II darüber und legt die Deckschale wieder auf.

Die II. und III. Verdünnung wird in der gleichen Weise ausgegossen und versorgt.

Wenn alle Platten untergebracht sind, wird die feuchte Kammer an einen dunkeln, nicht zu kühlen Ort gestellt; wollen wir recht gleichmäßige Wärme haben, in einen Brutschrank, der auf 20 bis 22° erwärmt ist, oder in der heißen Zeit auf diese Temperatur abgekühlt werden kann (s. S. 140).

Die in den Topf gelegten Wattestopfen und Reagenzgläser werden vorsichtig mit Wasser übergossen und ausgekocht.

Wie lange sollen die Kulturplatten mit Gelatine in der feuchten Kammer bleiben, bis sie untersucht werden dürfen?

Das richtet sich nach den Verhältnissen. Ohne den Deckel zu lüften, sehen wir täglich von oben und von der Seite hinein, ob bereits eine Entwicklung wahrzunehmen ist oder sich gar verflüssigende Kolonien breit machen. In diesem Falle säume man nicht, die Untersuchung sogleich in der später beschriebenen Weise vorzunehmen.

Abgesehen von besonderen Fällen warten wir gewöhnlich 2 bis 4 Tage.

Abänderungen beim Gelatineplattenverfahren.

Das **Schälchenverfahren** hat, wie erwähnt, die Ausgießung auf Platten mit der Zeit sehr zurückgedrängt. Man spricht aber ganz allgemein noch vom Plattenverfahren und von Agar- und Gelatineplatten, auch wenn man in Schälchen ausgegossen hat. Bei Reisen ist man überhaupt auf sie angewiesen. Sie sind auch für Gelatine deshalb besser, weil der etwa verflüssigte Gelatinenährboden nicht ablaufen kann.

Digitized by Google

Die Verdünnungen werden genau so angelegt wie beschrieben. Das Eingießen geschieht, indem man das Deckschälchen nicht mehr als unbedingt nötig lüftet, ohne es zur Seite zu bringen. Ueber die Verwendung des Nivellierapparates s. S. 115.

Die Aufbewahrung der gegossenen Schälchen erfolgt unter einem Becherglase, das über die turmartig übereinandergeschichteten Schälchen gestülpt wird und in einer entsprechend großen, niedrigen Glasschale ruht (Fig. 121). Der Boden dieser Schale wird mit Filtrierpapier belegt, das beim Einstellen von Gelatinekulturen befeuchtet wird; Agarschälchen, die ohnehin meist kürzere Zeit aufgehoben werden, halten sich durch ihr eigenes Schwitzwasser feucht; für längere Aufbewahrung, namentlich bei Wärme, kann man auch ein offenes Schälchen mit Wasser hineingeben. Zwischen je zwei Schälchen muß ein Scheibchen Fließpapier gelegt werden, damit sich die Schalen gegenseitig nicht zu sehr verkritzen; die entstehenden Schrammen stören beim Mikroskopieren und ganz bedeutend beim Mikrophotographieren. Die Aufschriften werden entweder mit Tinte oder Tusche, oder auf aufgeklebte Zettelchen gemacht.

Fig. 121.

Die Anordnung der Fig. 121 wird für Reisen durch ein passendes Gefäß aus Pappe oder Holz oder Metall ersetzt; eines der letzteren ist z. B. von E. Pfuhl mit Handhabe angegeben worden (Fig. 122).

Fig. 122.

Rollplatten werden jetzt nur noch sehr selten, vielleicht für Improvisationen in Ermangelung von Schälchen angelegt. Sie sind seinerzeit von E. v. Esmarch (ZfH. 1. 293) angegeben worden, um die in dünner Gelatineschicht auf der ganzen inneren Oberfläche eines weiten Reagenzglases verteilten Kolonien längere Zeit beobachten zu können, ohne daß sie Luftverunreinigungen ausgesetzt sind. Verflüssigende Keime können dagegen mit der Zeit störend werden.

Ein in bekannter Weise geimpftes Röhrchen wird über dem Wattestopfen mit einer Gummikappe versehen und in recht kaltem Wasser schwimmen gelassen; man beginnt sofort, es durch leichte Bewegungen mit der einen Hand in Drehungen zu versetzen, während die andere Hand dafür zu sorgen hat, daß es immer in wagrechter Lage bleibt. Dies geschieht so lange, bis die Gelatine ganz starr geworden ist, und kann auch unter der Leitung gemacht werden, wenn das Wasser kühl genug ist. Für eine bequemere rasche Drehung sind verschiedene Vorrichtungen angegeben worden, für deren Einzelaufführung wegen der Seltenheit der Anwendung nicht der Platz ist.

Sind die Kolonien ausgekeimt, dann kann man sie unter dem Mikroskop besichtigen; damit die Wärme der Hand der Gelatine nicht schadet, nehme man Reagenzglashalter, wie sie von v. Sehlen, sowie von E. v. Esmarch (HR. 2. 660) angegeben worden sind.

Zweck des Plattenverfahrens.

Die beschriebene Trennung der Keime mit Hilfe der festen Nährböden wird nach drei Richtungen hin praktisch verwendet:

1. Zur Mengenbestimmung der in einer Ausgangsflüssigkeit befindlichen züchtbaren Keime;

Digitized by Google

2. zur Unterscheidung der Kleinwesen; da die Größe, die Form, das Verflüssigungsvermögen und die Zeichnung der Ansiedlungen der einzelnen Bakterienarten vielfach verschieden und manchmal bis zu einem gewissen Grade charakteristisch ist;

3. zur Abimpfung von angegangenen getrennten Kolonien um zweifellose Reinkulturen der betreffenden Kleinwesen für weitere Untersuchungen zu erhalten.

Mengenbestimmung der Keime.

Als Ausgangspunkt ist eine Flüssigkeit am geeignetsten, weil man in ihr die Keime ziemlich gleichmäßig verteilen kann. Feste und halbfeste Dinge werden deshalb in bestimmter Menge, so gut es geht, in einem Röhrchen mit verflüssigtem Nährmaterial verteilt, davon wieder bestimmte Mengen abgemessen, z. B. 1 ccm oder ein größerer oder kleinerer Bruchteil davon, und Platten gegossen.

Wenn das Ausgangsmaterial sehr keimreich ist, kann man auf die Ausgießung des ersten Gelatineröhrchens verzichten, überhaupt die erste Verdünnung in Bouillon anlegen.

Die Bestimmung der Keimzahl einer gewachsenen Kolonie. Das Bedürfnis nach einer Erledigung dieser Frage ist im allgemeinen sehr gering, immerhin sei das einschlägige Verfahren beschrieben, weil es für andere Zwecke in analoger Weise Anwendung finden kann.

Um ein Maß zu haben, pflegt man von einer Platinöse bekannten Inhalts auszugehen; z. B. von der mit dem Oesenbieger Nr. 1 angelegten (s. S. 18), die etwa 2 mg faßt. Die mit ihr aus einer gewachsenen Kultur entnommenen Bakterien werden in 10 ccm Bouillon übertragen, 2 ccm der Aufschwemmung mit 10 ccm Peptonwasser vermischt und 1 bis 3 Tropfen mit einer Patenttropfflasche zur Aussaat auf Platten gebracht (M. Deeleman KGA. Arb. 13. 274).

Verfahren nach M. Ficker (Diss. Leipzig 1895): Eine isoliert gelegene Kolonie wird mit dem Okularmikrometer ausgemessen, ganz umstochen, mit einer Platinschaufel samt dem Nährboden herausgehoben und in ein Patenttropfflöschchen übertragen, worin sich 20 ccm steriler neutraler Bouillon von 30 bis 40° Wärme befinden. Nachdem die Gelatine geschmolzen und die Kolonie durch kräftiges Schütteln gehörig verteilt ist, gibt man von dieser Aufschwemmung einen Tropfen in ein anderes Patenttropfflöschchen mit 10 cm Bouillon und davon einen Tropfen in eine Gelatineplatte. Neutrale Bouillon oder neutrale Peptonkochsalzlösung wirkte wenigstens Choleravibrionen gegenüber weniger schädigend auf die frisch eingebrachten Keime als die ursprünglich angewendete physiol. Kochsalzlösung (ZfH. 29. 54). Ueber die Vorsicht beim Gebrauch der Tropfflöschchen s. S. 22; die Tropfengröße wird geeicht, indem man ein schmales Meßgläschen von 5 ccm Inhalt tropfenweise eingießend füllt und aus der Anzahl der Tropfen den Rauminhalt des einzelnen ermittelt.

Die Bestimmung der Keimzahl in einer Flüssigkeit wird durch Aussaat von 1 ccm, bei voraussichtlich hoher Keimzahl von Bruchteilen eines Kubikzentimeters gemacht, wobei man die Bruchteile sicherer nach Tropfen anstatt nach Teilstrichen der Pipette abmißt.

Die Vorsichtsmaßregeln bei der Aussaat, die Dauer der Züchtung, die mikroskopische Auszählung sind in ausführlicher Weise beim Kapitel Wasser beschrieben. Hier sei nur erwähnt, daß die dort ausschließlich berücksichtigte Verwendung von Petrischälchen die zweckmäßigste ist, wenn man nicht jede einzelne Kolonie, sondern nach Gesichtsfeldern auszählen will; denn bei Platten werden die Fehler durch die unregelmäßige Randbegrenzung der ausgebreiteten Gelatineschicht größer.

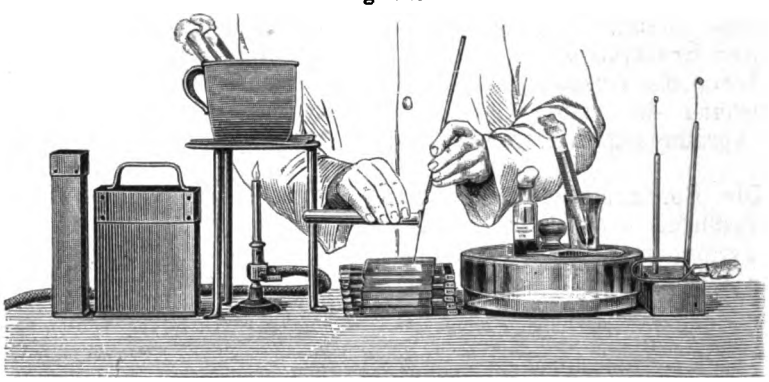
Digitized by Google

Auf die Auszählung von Rollröhrchen kann wegen der Seltenheit ihrer Anwendung hier nicht eingegangen werden. Sie muß selbstverständlich ebenfalls unter dem Mikroskop erfolgen, denn bei der Lupenzählung, oder gar bei der Zählung mit bloßem Auge würden die Ergebnisse zu ungenau ausfallen. Wer sich für die Ausrechnung der Oberfläche der Gelatineschicht interessiert, sei auf die Untersuchungen von B. Körber ZfH. 16. 513 verwiesen.

Gewinnung isolierter Kolonien.

Wenn man ohne Rücksicht auf die Zahl der Keime und der Arten in einem Bakteriengemenge lediglich eine Kultur auf ihre Reinheit prüfen oder eine bereits isolierte Bakterienart hinsichtlich des Aussehens ihrer Ansiedlungen studieren will, kann man von der quantitativen

Fig. 123.



Abmessung des Aussaatmaterials absehen und auch die Anlegung von drei Verdünnungen ersparen. Man verteilt in einem Bouillonröhrchen so viel von der Kultur als an einer Platinnadel hängen bleibt, mischt gut und überträgt davon eine 3 mm-Oese auf ein Gelatineröhrchen, das in ein steriles Petrischälchen ausgegossen wird. Das Bouillonröhrchen kann man entweder sogleich im Dampf oder im siedenden Wasserbade sterilisieren oder zur Beobachtung des Wachstums in Flüssigkeit bei geeigneter Temperatur aufstellen.

Will man mehrere Bakterienarten gleichzeitig in der gedachten Richtung prüfen, so kann man viel Zeit und Material mit der Anlegung von

Gelatinescheiben ersparen. Aus einem etwa 7 ccm Nährgelatine enthaltenden Röhrchen können wenigstens 3 Platten mit je 6 Scheiben hergestellt werden. Man braucht dazu die ebenen Glasplatten, die, wie S. 119 beschrieben, in einer feuchten Kammer auf Bänkchen übereinandergeschichtet werden.

Man gießt, wie Fig. 123 zeigt, längs einer auf die Platte ziemlich steil gehaltenen Platinnadel 3 bis 5 Tropfen verflüssigter Nährgelatine links oben hin und der Reihe nach fünf weitere solcher etwa fünf- bis zehnpfennigstückgroßer Scheiben auf den übrigen Teil der obersten Platte. Dann setzt man diese Platte an die unterste Stelle und versieht die nächste in ähnlicher Weise mit sechs Gelatinescheibchen u. s. f.

Hierauf wird die erste Platte vorgenommen; falls die Gelatine unterdessen

Digitized by Google

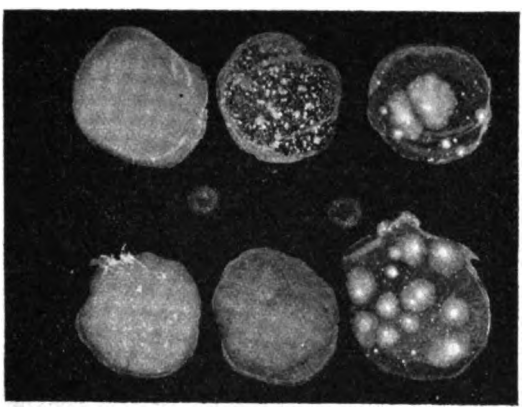
zähflüssig geworden sein sollte, wird sie durch kurze Erwärmung in angemessener Entfernung über der Flamme wieder dünnflüssig (nicht heiß!) gemacht.

Mit der Spitze einer infizierten Platinnadel wird das Impfmaterial neben die erste Scheibe übertragen und mit der Nadel oder mit einer sterilisierten Platinöse durch mehrmalige kreisförmige Züge gut verteilt; dadurch wird die Scheibe etwas breiter, sie darf aber nicht zu dünn werden.

Der in der Oese bleibende Tropfen, der noch infiziert ist, wird dann dicht neben die nächste Gelatinescheibe gelegt und durch kreisförmige Züge in der zweiten Scheibe verteilt, u. s. f. bis alle sechs Scheiben der betreffenden Platte geimpft sind. Die von der sechsten Scheibe her in der Oese haften bleibende Gelatine wird in Form zweier Tröpfchen zwischen den sechs Scheiben irgendwo niedergelegt.

Nachdem die sechs Scheiben sämtlicher Platten mit dem verschiedenen Ausgangsmaterial geimpft sind, werden sie in die feuchte Kammer gesetzt.

Fig. 124.



Auf richtig angelegten Platten sind die Gelatinescheiben nach einigen Tagen mit Kolonien in absteigender Reichlichkeit besetzt, wie z. B. die mit Bakterien der blauen Milch (Bac. cyanogenes) angelegte Platte der Fig. 124 zeigt.

Anlegung von Agarplatten.

Bakterien, die unter 25° nur langsam oder nicht fortkommen, muß man auf dem brütbeständigen Agar zu züchten versuchen, den man zur Isolierung der Keime in Kulturschälchen ausbreitet. Bei Wirkung der Körperwärme entwickeln sich viele, insbesondere alle parasitischen Arten wesentlich rascher, und es fällt diesem Vorteil gegenüber nicht so sehr ins Gewicht, daß die Schicht des Nährbodens etwas weniger hell und klar und die Zeichnung der auf seiner Oberfläche zur Entwicklung gelangten Kolonien vielfach weniger charakteristisch ist als bei Gelatine; ferner, daß ein Unterschied zwischen verflüssigenden und nicht verflüssigenden Bakterien nicht gemacht werden kann.

Die Anlegung von Verdünnungen wie beim Gelatineverfahren ist hier mißlich, weil die Agarlösung erst bei 98° flüssig wird und unter 40° bereits wieder erstarrt. Will man sie machen, so muß der Nähragar im siedenden Wasserbade gelöst und dann so lange in einem Wasserbade von etwa 42° aufbewahrt werden, bis er ungefähr diese Temperatur angenommen hat; dann erst kann die Einsaat erfolgen, denn andernfalls würden zu viele der empfindlichen Keime durch

Digitized by Google

die hohe Wärme getötet werden; nun aber heißt's flink arbeiten, denn die drei Verdünnungen und Ausschüttungen der Nährlösung in die Schälchen müssen beendigt sein, ehe sie Zeit hat, zur Gallerte zu erstarren, was bei oder nur wenig unter 40° mit einem Male erfolgt.

Zumeist werden die Verdünnungen durch Verteilung des Impfmaterials auf der Oberfläche des bereits in die Schälchen gegossenen Agars gemacht.

Herrichtung der Agarschälchen. Einige Agarröhrchen werden in siedendes Wasser gestellt und ihr Inhalt nach Abflammung des Reagenzglasrandes in ebensoviele Petrischalen geschüttet, wobei der Deckel zum Schutze gegen auffallende Keime nicht mehr und nicht länger als nötig gelüftet bleibt.

Dann neigt man das wieder bedeckte Schälchen mehrmals sachte, bis die Nährmasse den Boden gleichmäßig bedeckt und stellt es auf eine ebene Fläche (Nivellierapparat) zur Erstarrung des Agars.

Von derartig gegossenen Schalen seien stets einige zur Hand, da man sie fast täglich braucht. Sie werden unter einem Becherglase (Fig. 121) vorrätig gehalten und nach Verbrauch augenblicklich wieder ergänzt.

Die Agarschälchen werden stets mit dem Deckel nach unten aufbewahrt, damit das Schwitzwasser ablaufen kann und die Agaroberfläche trocken bleibt; sonst würden die aufgeimpften Keime nicht genügend getrennt zur Entwicklung kommen.

Impfung. Die Agarschale wird mit dem Deckel nach unten auf den Tisch gelegt.

Die Kulturschale wird vom Deckel weg mit der linken Hand genommen und so gehalten, daß die Nährbodenschicht wenn möglich nicht gerade nach oben sieht (zum Schutz gegen Luftkeime).

Die infizierte Platinnadel oder -Oese wird in 3 bis 6 nicht zu dicht angelegten parallelen Strichen oder in parallelen Schlangenlinien über die Oberfläche ausgestrichen (Abänderungen s. S. 125). Dabei darf die Agarschicht weder eingeritzt noch eingeschnitten werden. Auch vermeide man die Anlegung von sich kreuzenden Strichen oder gar das Durcheinanderfahren, weil sonst die Keime nicht gehörig isoliert werden.

Auflegen der Agarschale auf ihren Deckel; Ausglühen des Drahtes.

Aufkleben eines Zettels mit Bezeichnung des Impfmaterials und des Datums auf der Außenseite des Deckels; zur Sicherheit gegen Verwechslungen kann die zum Deckel gehörige Schale noch besonders bezeichnet werden.

Einstellung der Doppelschale auf Fließpapierunterlage (s. S. 120) mit dem Deckel nach unten in das Becherglas (s. Fig. 121) und dann in den Brütschrank.

Da die vom Agar ausgepreßte Flüssigkeit bei der umgekehrten Lage nach dem Rande des Kulturschälchens gelangen muß und von der Agaroberfläche Keime mitführen kann, so ist sorgfältig darauf zu achten, daß die Fingerbeere nicht mit jenem Rande in Berührung kommt, selbst wenn er gar nicht naß scheinen sollte. Fig. 125 zeigt, wie man ein Schälchen anfassen soll, Fig. 126 zeigt die falsche Haltung eines Schälchens.

Digitized by Google

Abänderungen bei der Aussaat. Anstatt nur eine Nadel oder Oese mit dem Impfmaterial strichförmig zu führen, kann man insbesondere Flüssigkeitströpfchen über die ganze Oberfläche verteilen und zwar entweder mit Pinseln oder einem Glasspatel.

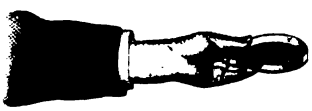
Die Aufpinselung haben W. Freymuth und Lickfett mit einem sterilen Pinsel aus dicken Seidenfäden von etwa 1½ cm Länge vorgenommen, die an einem Holzspatel befestigt waren; der Pinsel wurde in eine Aufschwemmung des Impfmaterials getaucht, an der Wand des Glases durch Abstreichung von Ueberschuß befreit und zart über die Oberfläche des Agars geführt.

Paffenholz ließ Pinsel aus mehreren hundert feinsten Platindrähtchen von 1½ bis 2 cm Länge (Fig. 127) herstellen (HR. 5. 733);

Fig. 125.

Richtige Haltung.

Fig. 126.



Falsche Haltung.

sie werden von der Platinschmelze von W. C. Heraeus in Hanau in Nickelhalter geliefert. Tuschpinsel sind wegen der mitunter anhaftenden sehr widerstandsfähigen Keime weniger zu empfehlen.

Fig. 127.

Auftragungen und Verreibungen von Aufschwemmungen mit einem rechtwinklig gebogenen Glasstab, dem sogenannten Glasspatel nach v. Drigalski und H. Conradi (Fig. 127 und 26) werden insbesondere bei größeren Kulturschalen speziell bei der Typhusdiagnose gemacht.

Die Besichtigungen der auf Agarplatten gewachsenen Ansiedlungen kann schon nach wenigen Stunden von Erfolg sein, meistens wird wenigstens am anderen Tage gutes Wachstum zu erwarten sein. Zur Durchmusterung mit dem Mikroskop braucht der Deckel nicht unbedingt abgenommen zu werden, man erkennt die Kolonien mit schwacher Vergrößerung schon in der umgekehrten Schale.

Gewinnung von Reinkulturen aus Plattenaussaaten.

Die Platten oder Schälchen werden bei schwacher Vergrößerung, etwa Leitz Objektiv 2, Okular 3 durchgesehen, wobei die Blende unter dem Beleuchtungsapparat fast ganz eng gemacht werden muß. Die als geeignet gefundenen Kolonien werden „abgeimpft", „gefischt" oder „abgestochen".

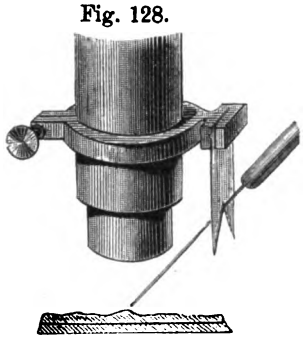
Abimpfung bei nicht zu dicht besäten Platten. Bei einiger Uebung gelingt es leicht, nicht allzukleine Ansiedlungen inmitten zahlreicher anderer mit dem bloßen Auge wiederzuerkennen, wenn man sie einmal im Mikroskop gesehen und sich die gegenseitige Lage der Umgebung gemerkt hat; nur berücksichtige man, daß das Bild umgekehrt war! Während die Platte genau an ihrem Platze bleibt, wird der Revolverobjektivträger etwas zur Seite geschoben,

Digitized by Google

damit man das Feld frei hat, und die Kolonie, von deren isolierten Lage und Reinheit man sich überzeugt hat, mit der sterilisierten, gespitzten Platinnadel berührt. Einstellung des Objektivs und ein Blick ins Mikroskop genügt, um sich davon zu überzeugen, daß man wirklich die bestimmte Kolonie und bloß diese getroffen. Dann wird ein Reagenzröhrchen mit festem Nährboden, wie bei der Anlegung der I. Verdünnung beschrieben, in die andere Hand genommen, der Wattepfropf herausgedreht, zwischen den 3. und 4. Finger gegeben und, nachdem die Wattefasern am Reagenzglasrand in der Flamme abgesengt worden sind, die infizierte Platinnadel eingestochen. Aufsetzen des Wattepfropfens, Ausglühen der Nadel; Aufbewahrung der neuen Kultur am dunkeln Ort!

Abimpfung bei dichter besäten Platten. Hier muß unter mikroskopischer Kontrolle abgestochen werden. Während die Hand mit dem kleinen Finger auf die Kante des Objekttisches gestützt ist, führt man die schreibfederartig gehaltene Platinnadel in den Raum zwischen Objektivlinse und Platte, wobei keine von beiden berührt werden darf. Alsdann sieht man ins Mikroskop, senkt die schon vorher ungefähr in die Mitte des Gesichtsfelds gebrachte Nadel sachte, bis man sie scharf vergrößert sieht, und berührt mit ihr die Kolonie, bis etwas an der Nadel hängen bleibt. Nun wird sie sorgsam wieder entfernt und in ein Reagenzglas mit Gelatine oder Agar eingestochen.

Fig. 128.



Der Stützpunkt für die Nadel ist sicherer zu gewinnen, wenn man ein fahnenförmiges Blech mit dreieckigem Ausschnitt, wie Fig. 128 zeigt, mit einem Ring am Objektiv befestigt (W. Prausnitz, C. 9. 128).

Eine sogenannte Bakterienharpune nach P. G. Unna (bei C. Zeiß in Jena um 5 Mk. zu haben) ist eine Nadel, teurer und besser aus Platiniridium gefertigt, die an einem Schlittenobjektivwechsler befestigt wird. Durch Senken des Tubus wird sie in die Gelatine eingestochen. Damit man sicher die in die Mitte des Gesichtsfeldes eingestellte Kolonie trifft, muß das an einem anderen Schlittenobjektivwechsler befestigte Objektiv unter Zuhilfenahme eines Okularfadenkreuzes vorher genau auf den Einstichpunkt zentriert worden sein (C. 11. 278).

Bei sehr dichtem Kolonienstand, wo eine isolierte Abimpfung nicht gelingen kann, wird ein kleiner Bezirk mit der Platinnadel umschnitten, ausgehoben, in verflüssigte Gelatine übertragen und neuerdings eine Plattenserie mit Verdünnungen angelegt.

Dasselbe muß geschehen, wenn ein Zweifel an der Reinkultur der abgestochenen und angegangenen Kulturen besteht.

Weiterzüchtung und Anlegung von Sammlungen.

Ist mittels des Plattenverfahrens die Reinkultur einer Bakterienart geglückt, dann folgt die Aufgabe, sie als solche unter möglichster Erhaltung ihrer Form- und Lebenseigentümlichkeiten fortzuzüchten.

Digitized by Google

Da bei wiederholter Oeffnung des Reagenzglases die Möglichkeit, Verunreinigungen hinein zu bekommen, wächst, darf die Kultur nicht öfter als einmal, und zwar nur zum Zweck der unmittelbaren Ueberimpfung auf frischen Nährboden ihres schützenden Wattestopfens entkleidet werden. Ehe zur Ausführung irgend welcher weiterer Untersuchungen Material von ihr entnommen wird, ist zuvörderst die Abimpfung zu betätigen, entweder durch Einstechung des infizierten Platindrahtes in die Gelatine- oder Agarsäule: **„Stichkultur"** oder als **„Strichkultur"**, indem man über die Oberfläche des schräg erstarrten festen Nährbodens eine Linie zieht, ohne daß der Platindraht in die Tiefe dringt. Der Strich gewährt den Vorteil der reichlicheren Ernte und bequemeren seinerzeitigen Abimpfung; der Stich trägt bis zu einem gewissen Grade dem Sauerstoffabschluß Rechnung, denn oft sagen den Bakterien ausschließlich aerobiotische Bedingungen für die Dauer nicht zu.

Es lassen sich auch beide Zwecke vereinigen, wenn man erst auf der Oberfläche des Nährbodens den Strich führt und dann in die massigere Schichte einen Stich macht.

Die Strichkultur gestattet sogar eine teilweise mikroskopische Besichtigung. Dazu faßt man das Röhrchen oben und legt es so auf den Objekttisch, daß das dünne Ende der vom Nährboden gebildeten Zunge mit der Ansiedlung nach unten, also nach dem Beleuchtungsapparat zu sieht, schiebt auf einer Seite einige Objektträger unter, so daß die Kuppe des Reagenzröhrchens etwas tiefer liegt und etwaiges Schwitzwasser unten bleibt, und schützt das Röhrchen durch seitlich angelegte Klötzchen vor dem Rollen.

In jedem Laboratorium soll eine Reihe der bekannteren Arten von pathogenen und nicht pathogenen Bakterien in Reinkultur vorrätig sein, um jederzeit als Ausgangspunkt für Untersuchungen, namentlich vergleichende, dienen zu können.

Eine **Sammlung** muß stets auf dem laufenden erhalten werden. Dazu sind von Zeit zu Zeit Uebertragungen auf neue Nährböden erforderlich, damit die Kulturen nicht Einbuße an ihren Eigentümlichkeiten erleiden oder gar absterben. Es soll für jede Art das best geeignetste Nährmittel genommen werden, also z. B. für Diphtheriebazillen Bouillonserum, für Bac. cyanogenes ein Gemisch von Fleischwasser und Milch, für Hefen Würzegelatine, für Schimmelpilze Brotbrei u. dergl.

Die Umzüchtungen haben im allgemeinen in vierwöchentlichen Zwischenräumen zu erfolgen; doch ist dies für die einzelnen Arten nicht genau richtig. Sporenbildner brauchen nur alle 6 Monate oder noch später, Bakterien der Koligruppe und sehr viele andere nur alle 2 bis 3 Monate umgestochen zu werden; dagegen muß dies bei Choleravibrionen, Geflügelpest und anderen empfindlichen Arten alle 3 bis 4 Wochen geschehen; Pneumoniekokken halten sich kaum 6 bis 8 Tage, doch gelingt es, sie ½ bis 1 Jahr entwicklungsfähig und virulent zu bewahren, wenn man Blut von infizierten Tieren an Seidenfäden im Exsikkator aufbewahrt. Influenzabazillen, Gonokokken, Meningokokken und mehrere andere Arten lassen sich überhaupt nicht gut fortführen.

Digitized by Google

Aber auch leichter zu haltende Arten sterben mitunter im Laufe der Generationen ohne erfindliche Ursache ab.

Die **Ordnung der Kulturen** in der Sammlung geschieht meiner Erfahrung nach am besten gruppiert nach solchen, die alle 1, 3 und 6 Monate umgestochen werden sollen. Innerhalb dieser Gruppen stellt man die Kulturen so, daß möglichst solche Bakterienarten nebeneinander zu stehen kommen, die schon fürs Auge verschieden sind, damit Verwechslungen leichter vermieden sind; z. B. wäre eine Typhuskultur von der eines Paratyphus oder eines Bac. coli räumlich weit zu trennen und in die Nähe einer farbstoffbildenden oder verflüssigenden Art zu stellen, z. B. neben Bac. pyocyaneus. Die beste Uebersicht hat man in Reagenzglasgestellen für je zweimal 6 Röhrchen, jedes Gestell trage die fortlaufende Nummer und sei nur für je 5 Stämme bestimmt, von denen die jüngere Kultur immer in der oberen, die ältere in der unteren Reihe steht.

Auch die Kulturen seien fortlaufend numeriert, und jeder Stamm behalte stets seine Nummer; über alle sei ein geordnetes Verzeichnis vorhanden, in das auch die Herkunft der Stämme eingetragen wird.

Durch Antrocknung an Seidenfäden, die in einem Exsikkator über Chlorcalcium aufbewahrt werden, läßt sich Mühe und Material sparen. Leider eignen sich nicht alle Arten dafür, z. B. nicht die Choleravibrionen, die Bakterien der Hühnerpest u. a.

Verfahren beim Umstechen. Eine gute Fortführung wird am sichersten mit Stichkulturen erzielt; bei Strichkulturen wird man mehr Verluste haben. Deshalb nehme man im Reagenzgläschen gerade erstarrte Gelatine- oder Agarnährböden; für manche Kleinwesen eignet sich Bouillon noch besser, nur ist hier die Gefahr größer, daß durch zufälliges Hineingelangen eines anderen Keims gleich die ganze Kultur verunreinigt wird.

Die Röhrchen werden in einem zweireihigen Gestell hergerichtet, oben stehen die Kulturen, unten die neu zu impfenden Nährböden. Dann beschreibt man die gummierten Aufschriftzettel (S. 28) mit:

1. Sammlungsnummer in der linken oberen Ecke.
2. Name; dahinter das Datum der Kultur, von der abgeimpft wurde.
3. Datum der jetzigen Umstechung (Tag, Monat und Jahr) in der rechten unteren Ecke.

Die gummierten Aufschriftzettel werden in einem Blockschälchen mit feuchter Watte (nicht mit dem Munde!) angefeuchtet.

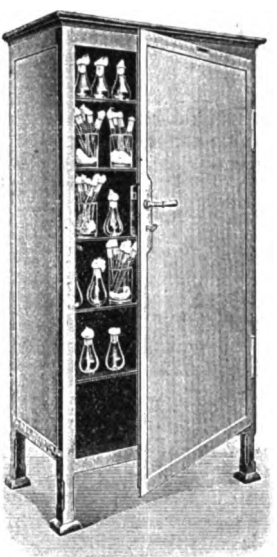
Die beiden Röhrchen, das alte und das neue, werden in die linke Hand zwischen Daumen und Zeigefinger genommen und die abgenommenen Wattestopfen wie in Fig. 119, S. 117 gehalten. Etwa an den Rändern haftende Wattefasern werden in der Flamme rasch abgesengt. Dann wird mit der geglühten und wieder erkalteten Platinnadel eine Spur vom gewachsenen Rasen in den frischen Nährboden auf dem kürzesten Wege übertragen, die Platinnadel abgeglüht, beiseite gestellt (nicht gelegt!) und jeder Stopfen auf sein Röhrchen gesetzt. Nun klebt man den unterdessen feucht gewordenen beschriebenen

Digitized by Google

Zettel auf das neue Röhrchen, vergleicht nochmal die Aufschrift mit dem alten und stellt beide wieder an ihren Platz, das neue oben, das alte unten ins Gestell.

Gelatinekulturen und solche, die nur bei Zimmerwärme fortkommen, werden bei dieser aufbewahrt, alle anderen dem Brütschrank von 35 bis 37° übergeben. In diesem hält man sie bloß so lange, bis sie angegangen sind. Das ist in den allermeisten Fällen binnen 24 Stunden der Fall (Tuberkelbazillen brauchen einige Wochen). Bleibt die Entwicklung aus, wiederholt man die Ueberimpfung, und ist auch diese erfolglos, dann nimmt man das Ausgangsröhrchen, gießt über die Kultur eine Portion, etwa 6 ccm, Bouillon und stellt diese in den Brütschrank. Erfolgt hier Entwicklung, dann wird mikroskopisch untersucht, ob eine Reinkultur vorhanden ist, allenfalls eine Plattenaussaat angeschlossen. Erfolgt keine, dann ist die Kultur abgestorben gewesen.

Fig. 129.



Alle Kulturen sollen dunkel in einem verschließbaren Schrank aufbewahrt werden. Die größte Sicherheit und Sauberhaltung gewähren die eisernen Spinde mit Glasregalen der Fig. 129.

Die Ergänzung der Sammlung erfolgt am besten durch frische Züchtungen, bei pathogenen Bakterien aus Se- und Exkreten, Organen von Kranken, Leichen, an Seidenfäden angetrocknetem Organsaft, Blut u. s. w. Wohl alle züchtbaren Mikroorganismen sind in Reinkulturen von dem bakteriologischen Laboratorium von F. Král in Prag (I. kleiner Ring 11) käuflich zu beziehen.

Erreger gemeingefährlicher Krankheiten, also der Cholera und Pest, ferner die des Rotzes dürfen in gewöhnlichen bakteriologischen Laboratorien überhaupt nicht gehalten werden. Es sind dazu bestimmte Räume erforderlich. Dies ist für Pesterreger in den Ausführungsbestimmungen zum Gesetze über die Bekämpfung gemeingefährlicher Krankheiten vom 6. Oktober 1900 (KGA. Vöff. 00. 1033), für Cholera- und Rotzerreger in der Bekanntmachung des Reichskanzlers vom 4. Mai 1904 (KGA. Vöff. 04. 558) vorgeschrieben. Die letztere beschäftigt sich auch mit den übrigen Krankheitserregern und enthält Vorschriften über den Handel mit und die Versendung von Kulturen. Sie ist nachstehend im Wortlaut wiedergegeben.

Vorschriften über das Arbeiten und den Verkehr mit Krankheitserregern, ausgenommen Pesterreger.

§ 1. Wer mit den Erregern der Cholera oder des Rotzes oder mit Material, welches solche Erreger enthält, arbeiten will, ferner wer derartige Erreger in lebendem Zustand aufbewahren oder abgeben will, bedarf dazu der Erlaubnis der Landeszentralbehörde. An Stelle der letzteren treten für das Kaiserliche Gesundheitsamt das Reichsamt des Innern, für Militäranstalten das zuständige Kriegsministerium, für Marineanstalten das Reichsmarineamt. Die Erlaubnis darf nur für bestimmte Räume und nur nach Ausweis der erforderlichen wissenschaftlichen Ausbildung erteilt werden. Die den Leitern öffentlicher Anstalten erteilte Er-

Digitized by Google

laubnis gilt auch für die unter ihrer Leitung in diesen Anstalten beschäftigten Personen.

Der Erlaubnis bedarf es nicht bei Untersuchungen, welche der behandelnde Arzt oder Tierarzt zu ausschließlich diagnostischen Zwecken in seiner Praxis bis zur Feststellung der Krankheitsart nach den üblichen diagnostisch-bakteriologischen Untersuchungsmethoden vornimmt.

Lebende Erreger der Cholera oder des Rotzes dürfen nur an Personen und Stellen, die von der zuständigen Behörde die Erlaubnis zur Annahme erhalten haben, abgegeben werden.

§ 2. Wer mit anderen als den im § 1 bezeichneten Erregern von Krankheiten, welche auf Menschen übertragbar sind, oder von Tierkrankheiten, welche der Anzeigepflicht unterliegen, oder mit Material, welches solche Erreger enthält, arbeiten will, ferner wer derartige Erreger in lebendem Zustand aufbewahren will, bedarf dazu der Erlaubnis der zuständigen Polizeibehörde des Ortes, in welchem der Arbeits- oder Aufbewahrungsraum liegt. Die Erlaubnis darf nur für bestimmte Räume und nur nach Ausweis der erforderlichen wissenschaftlichen Ausbildung erteilt werden.

Auf Aerzte und Tierärzte finden die Vorschriften im Abs. 1 mit der Einschränkung Anwendung, daß sie der Polizeibehörde nur eine Anzeige von ihrem Vorhaben unter Angabe des Raumes nach Lage und Beschaffenheit zu erstatten und später jeden Wechsel des Raumes in gleicher Weise anzuzeigen haben.

Weder der Erlaubnis, noch der Anzeige bedarf es, wenn die Arbeit und die Aufbewahrung

a) in öffentlichen Krankenhäusern, welche mit den zur Verhinderung einer Verschleppung von Krankheitskeimen erforderlichen Einrichtung versehen sind, oder

b) in staatlichen Anstalten, welche zu einschlägigem Fachunterrichte dienen und behufs Bekämpfung der Infektionskrankheiten zur Anstellung von Untersuchungen oder zur Herstellung von Schutz- oder Heilstoffen bestimmt sind oder

c) vom behandelnden Arzte oder Tierarzt ausschließlich zu diagnostischen Zwecken in seiner Praxis vorgenommen werden.

§ 3. Wer lebende Kulturen von den im § 2 bezeichneten Krankheitserregern oder Material, welches solche Erreger enthält, feilhalten oder verkaufen will, bedarf dazu der Erlaubnis der zuständigen Polizeibehörde des Ortes, in welchem das Geschäft betrieben wird. Die Erlaubnis darf nur für bestimmte Räume und nur an zuverlässige Personen erteilt werden.

Der Händler hat über die Abgabe von Kulturen oder Material ein Verzeichnis zu führen, in welches die Art der Krankheitserreger, der Tag der Abgabe, der Name und die Wohnung des Erwerbers sowie des etwaigen Ueberbringers sofort nach der Verabfolgung vom Abgebenden selbst einzutragen sind, und zwar stets in unmittelbarem Anschluß an die nächst vorhergehende Eintragung. Das Verzeichnis ist drei Jahre lang nach Abschluß aufzubewahren.

§ 4. Wer eine Tätigkeit der in § 1, Abs. 1, § 2, Abs. 1 und § 3, Abs. 1 bezeichneten Art in einem ihm zur Verfügung stehenden Raume einer anderen Person gestattet oder aufträgt, hat dies der zuständigen Polizeibehörde (§ 2, Abs. 1 und § 3, Abs. 1) unter Angabe des Raumes, sowie der Wohnung, des Berufs, des Vor- und Zunamens dieser Person, ferner jeden Wechsel des Raumes sofort anzuzeigen. Diese Bestimmung findet auf Leiter der in § 2, Abs. 3 bezeichneten öffentlichen Krankenhäuser und staatlichen Anstalten keine Anwendung.

Die sich für andere Personen aus den Bestimmungen der §§ 1 bis 3 ergebenden Pflichten bleiben unberührt.

§ 5. Die im § 1, Abs. 1, § 2, Abs. 1 und § 3, Abs. 1 bezeichnete Tätigkeit, sowie die nach § 4 gestattete oder aufgetragene Ausübung solcher Tätigkeit durch andere ist einzustellen, wenn die Erlaubnis der Landeszentralbehörde oder Polizeibehörde zurückgenommen oder wenn die Tätigkeit von der zuständigen Behörde untersagt wird. Die Zurücknahme der Erlaubnis oder die Untersagung soll erfolgen, wenn aus Handlungen oder Unterlassungen der betreffenden Person der Mangel derjenigen Eigenschaften erhellt, welche für jene Tätigkeit vorausgesetzt werden müssen.

§ 6. Wer eine der im § 1, Abs. 1, § 2, Abs. 1 und § 3, Abs. 1 bezeichneten Handlungen vornimmt, hat — auch wenn er von der Einholung der Erlaubnis oder von der Anzeigepflicht entbunden ist — die Erreger so aufzubewahren, daß

Digitized by Google

sie Unberufenen unzugänglich sind; auch hat er sonst alle Vorkehrungen zu treffen, um eine Verschleppung der Krankheitserreger, insbesondere durch Versuchstiere, zu verhüten. Kulturen, infizierte Versuchstiere und deren Organe, sowie sonstiges die Krankheitserreger enthaltendes Material müssen, sobald sie entbehrlich geworden sind, derart beseitigt werden, daß jede Verschleppung der Krankheitskeime tunlichst ausgeschlossen wird. Instrumente, Gefäße u. s. w., welche mit infektiösen Gegenständen in Berührung waren, sind sorgfältig zu desinfizieren.

§ 7. Die Versendung von lebenden Kulturen der Cholera- und Rotzerreger hat in zugeschmolzenen Glasröhren zu erfolgen, die, umgeben von einer weichen Hülle (Filtrierpapier und Watte oder Holzwolle), in einem durch übergreifenden Deckel gut verschlossenen Blechgefäße stehen; das letztere ist seinerseits noch in einer Kiste mit Holzwolle, Heu, Stroh oder Watte zu verpacken. Es empfiehlt sich, nur frisch angelegte Agarkulturen zu versenden.

Material, welches lebende Krankheitserreger dieser Art enthält, oder zu enthalten verdächtig erscheint, ist so zu verpacken, daß eine Verschleppung des Krankheitskeims tunlichst ausgeschlossen wird. Zur Aufnahme des Materials sind besonders geeignet starkwandige Pulvergläser mit eingeschliffenem Glasstöpsel und weitem Halse, oder in deren Ermangelung Gläser mit glattem zylindrischem Halse, zu deren Verschluß gut passende, frisch ausgekochte Korke zu verwenden sind. Nach der Aufnahme des Materials sind die Gläser sicher zu verschließen, der Stöpsel ist mit Pergamentpapier oder dergl. zu überbinden; auch ist an jedem Glase ein Zettel fest anzukleben oder sicher anzubinden, der genaue Angaben über den Inhalt enthält. Zum Verpacken dürfen nur feste Kisten — keine Zigarrenkisten, Pappschachteln u. dergl. — benutzt werden. Die Gläser und sonstigen Behälter sind in den Kisten mittels Holzwolle, Heu, Stroh, Watte u. dergl. so zu verpacken, daß sie unbeweglich liegen und nicht aneinander stoßen.

Die Vorschriften über die Entnahme choleraverdächtiger Untersuchungsobjekte behufs bakteriologischer Feststellung der Cholera und über die Versendung des Materials an eine Untersuchungsstelle werden durch vorstehende Bestimmungen nicht berührt.

Die Sendungen (Abs. 1 u. 2) müssen mit starkem Bindfaden umschnürt, versiegelt und mit der deutlich geschriebenen Adresse, sowie mit dem Vermerke „Vorsicht" versehen werden. Bei Beförderungen durch die Post sind die Sendungen als „dringendes Paket" aufzugeben und den Empfängern telegraphisch anzukündigen. Bei Versendung lebender Kulturen hat der Empfänger dem Absender den Empfang der Sendung sofort mitzuteilen.

§ 8. Die Versendung von lebenden Kulturen der im § 2, Abs. 1 bezeichneten Krankheitserreger hat in wasserdicht verschlossenen Glasröhren zu erfolgen. Diese Röhren sind entweder in angepaßten Hülsen oder, mit einer weichen Hülle (Holzwolle, Watte u. dergl.) umgeben, derart in festen Kästen zu verpacken, daß sie unbeweglich liegen und nicht aneinander stoßen. Der Empfänger hat dem Absender den Empfang der Sendung sofort mitzuteilen.

Material, welches lebende Krankheitserreger dieser Art enthält oder zu enthalten verdächtig erscheint, ist so zu verpacken, daß eine Verschleppung des Krankheitskeims ausgeschlossen wird.

Die Sendungen (Abs. 1 und 2) müssen fest verschlossen und mit deutlicher Adresse, sowie mit dem Vermerk „Vorsicht" versehen werden.

Dauernde Aufbewahrung wird für besonders gut und schön entwickelte Kulturen oft gewünscht. Am sichersten ist die Abschmelzung, weniger sicher der Verschluß mit Paraffin oder Plastilin; hier ist die Aufbewahrungszeit begrenzt; übrigens verändern auch luftdicht abgeschmolzene Kulturen vielfach ihr Aussehen, nur vor Austrocknung sind sie unbedingt geschützt. Vor dem Abschluß kann man die Kultur formalinisieren; dies geschieht auch zur Unterbrechung des Wachstums im geeignetsten Augenblick, wenn z. B. verflüssigende Kolonien auf Platten andere bedrohen. Von diesem Gesichtspunkte aus wird die Formalinisierung bei den zur Keimzählung bestimmten Platten gemacht; man kann dann die Zählung auf einen beliebigen Zeitpunkt verschieben (s. Wasseruntersuchung).

Digitized by Google

Die **Konservierung mit Formalin** ist von G. Hauser in die bakteriologische Technik eingeführt worden. Keime von nicht besonderer Widerstandsfähigkeit werden bald abgetötet und die Nährböden für ihre weitere Entwicklung ungeeignet gemacht. Gelatine erleidet eigentümliche Veränderungen, sie läßt sich nicht mehr durch Hitze erweichen, etwa trüb gewesene wird klar und von peptonisierenden Keimen noch nicht zu weitgehend verflüssigte wird wieder starr (MmW. 93. 567 und 655). Letzteres erfolgt nach A. Mavrojannis dann, wenn die Zersetzung der Gelatine noch nicht weiter als bis zur Bildung von sogenannten Gelatosen vorgeschritten ist, ist sie dagegen bis zur Bildung von Pepton gekommen, dann nutzt auch Formalin nicht mehr (ZfH. 45. 108).

Reagenzglaskulturen werden mit einem Wattestopfen versehen, dessen unteres Ende mit etwa 8 bis 10 Tropfen Formalin angefeuchtet ist, und in ein mit gut schließendem Deckel versehenes Präparatenglas gestellt, auf dessen Boden mit Formalin befeuchtete Watte liegt (60 bis 70 Tropfen Formalin auf 1 l Rauminhalt). Die Gelatinesäule im Reagenzglas soll nicht höher als 4 cm sein, damit die Dämpfe bis an die tiefste Stelle dringen können; man gibt überdies in den nächsten Tagen noch einige Tropfen Formalin zu. Später kann der luftdichte Abschluß der einzelnen Reagenzgläser erfolgen.

Zu Platten hat man nur ein Blockschälchen mit einigen Kubikzentimetern Formalin in die feuchte Kammer zu stellen. Zur ferneren Aufbewahrung müßten sie in ein Gefäß von Glas oder Blech, getrennt durch Fächer, Einfalzungen u. dergl., gebracht und die Luft darin feucht erhalten werden; ein solches Gefäß hat C. Fermi C. 14. 615 angegeben.

Die freigewordenen Doppelschalen (feuchte Kammern) müssen, um sie ohne Schaden für andere Kulturen gebrauchen zu können, von jeder Spur Formalin befreit werden; dieses geschieht durch Ausspülung mit Ammoniak; der Ammoniaküberschuß wird mit etwas Salzsäure und folgender Wasserspülung entfernt.

Petrischalen mit Gelatine- oder Agarkulturen werden auf der Innenseite des Deckels mit Filtrierpapier belegt, auf das man 10 bis 15 Tropfen Formalin träufelt; dann stellt man sie nebst einem offenen Schälchen, das Watte mit 15 Tropfen Formalin auf 1 l Rauminhalt enthält, in eine feuchte Kammer.

Luftdichter Abschluß. Abschmelzung. Das Röhrchen, von dem der Wattestopfen abgenommen worden ist, wird nahezu wagrecht in die Flamme eines Bunsenbrenners oder einer Gebläselampe gehalten, so daß diese etwa 1 cm hinter dem Rande wirkt; dabei wird es fortwährend langsam gedreht. Fängt die Mündung nach dem Weichwerden des Glases an zu sinken, so wird sie mit einer Pinzette sachte unterstützt. Ist das Glas ringsum ganz weich geworden, dann fängt man an, mit der Pinzette sehr langsam und vorsichtig auszuziehen, wobei der entstehende Hals im Lumen (möglichst aber nicht im Glase) immer dünner wird und endlich zuschmilzt. F. Král hat dazu eine recht genaue Beschreibung gegeben, auf die verwiesen sei, wer so hübsche Dauerpräparate fertig bringen will, wie sie dieser Autor in Ausstellungen gezeigt hat. Von ihm und J. Soyka rühren noch weitere Ver-

Digitized by Google

fahren zur Herstellung von Dauerkulturen her (C. 1. 542; ZfH. 4. 144 und 5. 499). Anweisungen für Kulturen zu Ausstellungszwecken gab ferner G. Lindner in der Wochenschr. f. Brauerei 14. 525.

Paraffinverschluß nach E. Czaplewski. Reagenzglaskulturen werden, wenn sie noch nicht auf der Höhe ihrer Entwicklung angelangt sind, senkrecht aufgestellt und ihr oberflächlich abgesengter Wattestopfen 2 bis 3 mm tief unter die Mündung hineingestoßen. Dann wird geschmolzenes Paraffin aufgegossen; wenn die erste Portion vom Stopfen aufgesaugt ist, wobei reichlich Luftblasen entweichen, wird Paraffin nachgegossen, bis es gleichmäßig bis zum Rande steht. Beim Erkalten bildet sich eine trichterförmige Einsenkung, die von neuem aufgefüllt wird. Nachher tropft man im Ueberschuß Paraffin zu und schneidet das überstehende nach dem Erkalten mit einem Messer ab. Soll das Glas später wieder geöffnet werden, so hat man nur den Hals in der Flamme anzuwärmen, worauf sich der Pfropf mit einem kleinen Korkzieher oder einer Pinzette leicht herausbringen läßt (C. 6. 409).

Rollröhrchen goß W. Prausnitz mit wäßriger Gelatinelösung aus, der 5 % Essigsäure oder 1 % Phenol zugesetzt war, und verschloß mit Kork oder Siegellack (C. 9. 131).

Zur Demonstration von Reagenzgläsern hat V. Babes ein verschließbares Gestell angegeben (C. 4. 25).

Petrischälchen werden umgekehrt hingelegt und im Zwischenraum mit verflüssigtem Paraffin ausgegossen oder mit Plastilin ausgestopft.

Plastilin ist ein von Dr. Schuchardt in Görlitz zu beziehendes Präparat, das wahrscheinlich aus Ton und Rindertalg besteht und sich zu gasdichten Verschlüssen eignet.

Konservierung einzelner Kolonien. C. Garré trocknete die Gelatinestückchen auf dem Objektträger und schloß sie mit einem Tropfen konzentrierter Glyzeringelatine unter dem Deckglas ein (FdM. 4. 392); H. C. Plaut erwärmte sie mit wenig Wasser bis zur Zähflüssigkeit (FdM. 4. 419) und umgab das aufgelegte Deckglas mit einem Lackring. F. Lipez (C. 1. 402) ließ die Kolonie auf einem mit dem infizierten Nährboden überzogenen Deckglas zur Entwicklung kommen, trocknete im Exsikkator und verfuhr dann wie mit gewöhnlichen Deckglaspräparaten. E. Jacobi setzte die in möglichst dünner Schicht ausgebreitete, kolonientragende Gelatine erst der Einwirkung von 1proz. Kaliumbichromatlösung für 1 bis 3 Tage bei Licht aus, härtete sie nach Auswässerung in Alkohol und zerschnitt sie in Stücke, um diese wie Gewebeschnitte zu färben und einzuschließen (C. 3. 536). C. Günther bettete Teilchen von Agarplatten in Glyzerin ein (DmW. 89. 400).

Von formalinisierten Plattenkulturen werden nach G. Hauser deckglasgroße Stücke, die die gewählte Kolonie in ihrer Mitte enthalten, mit einem scharfen Spatel herausgeschnitten, auf einen Objektträger übertragen und mit etwas frischer verflüssigter Gelatine unter dem Deckglas eingeschlossen. Dieses Präparat kommt für 24 Stunden in die Formalinkammer zur Erstarrung der Einschlußmasse und wird danach durch einen Lackring vor Eintrocknung geschützt. Eine Bakterienfärbung läßt sich unschwer erzielen, wenn man das heraus-

Digitized by Google

geschnittene Gelatineplättchen für 24 Stunden in sehr schwache wäßrige Farbstofflösung, z. B. Fuchsinlösung von dunkelrosenroter Färbung, bringt und entweder wie vorhin einschließt oder auf dem Objektträger antrocknen läßt und dann in Kanadabalsam einbettet.

Züchtung bei höheren Wärmegraden.

Für Gelatineaussaaten benutzt man 20 bis 22°, für Kulturen auf Agar, Blutserum, in Bouillon u. s. w. 35 bis 38°, in Ausnahmefällen, zur Züchtung von „thermophilen" Bakterien 45 bis 60° und sogar

Fig. 130.

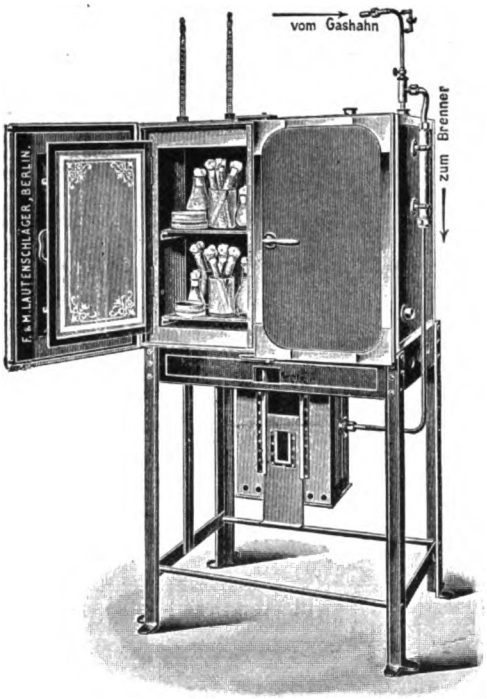


Fig. 131.

60 bis 70°. Die Apparate sind für alle diese Wärmegrade die gleichen, es sind Brütschränke, bei großem Betriebe Brützimmer; verschieden sind nur die Thermoregulatoren, die man zur Einhaltung einer gleichbleibenden Wärme innerhalb der genannten Breiten nötig hat.

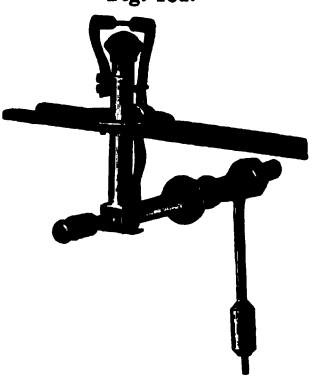
Die **Brütschränke** sind meistens doppelwandig aus Metall gefertigt und mit einem schlechten Wärmeleiter isoliert, in der Doppelwand befindet sich Wasser, das durch eine Heizquelle erwärmt wird. Es gibt auch Brütschränke aus Holz; diese werden entweder mit Warmwasser durch ein Zirkulationssystem oder mit erwärmten Metallröhren geheizt, die, senkrecht aufgestellt, ringsum an der Innenwand angebracht sind und vom Boden aus erhitzt werden.

Digitized by Google

Die doppelwandigen Brütschränke aus Metall ermöglichen die sicherste und gleichmäßigste Einhaltung der Temperatur, wenn ein guter Thermoregulator angewendet wird. Sie werden zumeist aus Kupfer hergestellt, billigere aus einer Kupferlegierung (Messing). Ein guter Brütschrank ist folgendermaßen ausgestattet (Fig. 130):

Die den Wassermantel bildenden kupfernen Wände sind außen mit Filz und dann noch mit einer Linoleumschicht, am Boden mit einer Asbesttafel isoliert. Die äußeren Türen sind ebenfalls doppelwandig, mit Luft gefüllt, außen ebenfalls mit Filz und darüber mit Linoleum bekleidet und schließen in Falzen, die mit Sattelfilz gefüttert sind. Auf die äußere folgt eine einfache innere Türe von Glas. Wände und Decke sind von einigen Rohrstutzen durchsetzt, um Thermometer u. s. w. in den Innenraum einführen zu können. Auch der Wassermantel ist oben mit drei solchen Rohrstutzen versehen; in den einen wird der Thermoregulator, in den anderen ein Thermometer mit langem Stil (Fig. 131) und Teilung in halbe Grade gesteckt; der dritte kann freibleiben, muß aber dann mit einem Stopfen verschlossen werden, damit nicht zu viel Wasser verdunstet. Außen am Apparate befindet sich ein metallenes Wasserstandsrohr mit Ventilauslaufhahn und Verschraubung; es trägt nur oben eine kurze Glasröhre. Die Innenwände sind aus gewelltem Kupferblech hergestellt und besitzen Vorsprünge zum Auflegen von Drahtnetzplatten, um zwei oder mehrere übereinanderliegende Abteilungen zu gewinnen. Die Erwärmung kann mit Gas, Elektrizität oder Petroleum geschehen; für alle drei gibt es besondere Wärmeregler.

Fig. 132.



Brütschränke für Gasheizung sind in der Regel mit Kochschem Sicherheitsbrenner (Fig. 132) ausgestattet, bei dem ein Hebel selbsttätig die Gasausströmung abschließt, falls durch einen Zufall die Flamme verlöschen sollte. Die Flamme erwärmt eine in oder über ihr liegende Feder, die aus zwei Metallen, Stahl und Messing, hergestellt ist und mit einem Fortsatz den Hebel in wagrechter Lage hält, beim Erkalten aber unter ihm zurückweicht und ihn dann herabfallen läßt, so daß er in der Stellung der Fig. 132 die Gaszufuhr abschließt. Beim Anheizen muß der Hebel aufgehoben und wagrecht gehalten werden, bis die Feder durch die angezündete Flamme genügend erhitzt ist und mit ihrem Fortsatz unter den Hebel greifen und ihn selbst tragen kann.

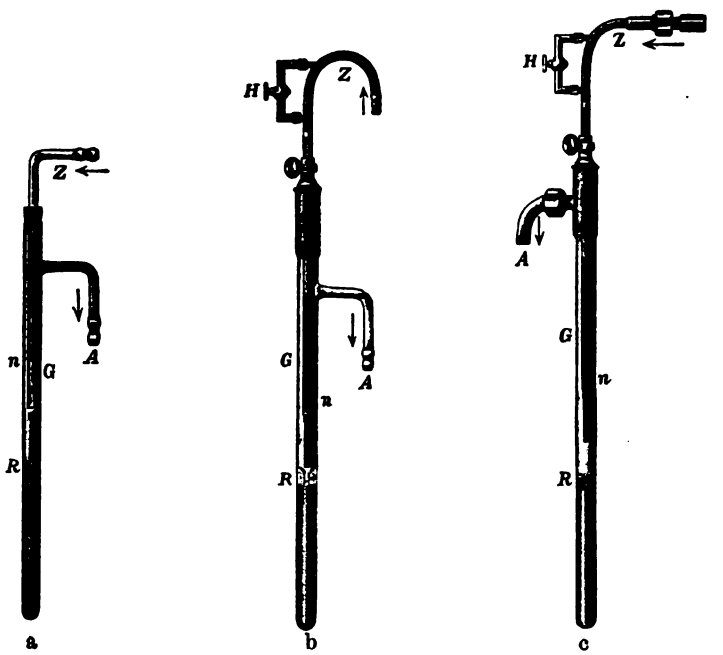
Nach dem Anheizen wird man außen am Boden des Brütschranks Wassertropfen bemerken, die bei kräftiger Flamme so reichlich werden können, daß sie auf den Zimmerboden fallen. Dieses Wasser kommt aus der Flamme und wird so lange tropfenförmig abgeschieden, als der Brütschrank noch nicht warm genug ist, um es dampfförmig fortleiten zu können. Darum wird es sich in besonders reichlichem Maße

Digitized by Google

bei solchen Apparaten bilden, die auf 20 bis 22° eingestellt sind und zeitweise durch automatisch zufließendes Wasser gekühlt werden. An derartigen Brütschränken ist nicht nur unter der Flamme eine Auffangschale angebracht (Fig. 136 bei A), sondern auch über der Flamme ein Trichter, der sich so rasch erwärmt, daß das Wasser dampfförmig fortgeleitet wird.

Die Verbindung des Brenners mit dem Thermoregulator und von diesem mit der Gasleitung darf nur mit Metallschläuchen ohne jegliche Einlage von Gummi, Asbest u. dergl. bewerkstelligt werden, wenn man vor Feuers- und Explosionsgefahr sicher sein will. Die Schläuche

Fig. 133.



sind mit Verschraubungen zu verbinden und deren Anschlußstücke mit den Gasarmaturen zu verlöten, wie es die beiden Ansätze am Thermoregulator der Fig. 133c zeigen.

Die Sicherheitsbrenner hängen in einem Brennerschutzkasten, der den Zweck hat, Luftströmungen von der Flamme abzuhalten und Wärme zu sparen.

Eine Zirkulationsvorrichtung ist im Wassermantel guter Apparate für die rasche Verteilung der Wärme vorgesehen, die den Zweck hat, bei plötzlichem Steigen des Gasdrucks, wie er gewöhnlich in den späten Nachmittagsstunden statthat, das erwärmte Wasser möglichst rasch und direkt nach dem Thermoregulator hinzuführen. Zu diesem Zweck ist im Innern entsprechend der Stelle, wo außen die Flamme wirkt, eine Kupferkappe umgekehrt aufgestülpt; sie trägt nahe ihrem unteren Rande ringsum Löcher, damit das Wasser in sie eintreten kann; das erwärmte Wasser wird durch drei oben von der Kappe

Digitized by Google

abgehende Röhren nach der hinteren und den beiden seitlichen Wänden geführt, wo sie in halber Höhe mit freier Oeffnung unter den erwähnten drei Rohrstutzen endigen, so daß also sowohl das Quecksilbergefäß des Thermometers als auch das des Thermoregulators zuerst von dem warmen Wasserstrom getroffen werden müssen.

Thermoregulatoren gibt es in den verschiedensten Anordnungen, und zwar wird die Gaszufuhr freigegeben oder abgeschlossen, also geregelt durch:

a) eine dicke Quecksilbersäule, die durch eine Flüssigkeit von entsprechendem Siedepunkt auf und ab bewegt wird:

b) eine dünnere Quecksilbersäule, die durch die Dichtigkeitsschwankungen des Quecksilbers selbst in ihrer Länge verändert wird;

c) durch die Ausdehnung und Zusammenziehung eines Stabes aus zwei verschiedenen Metallen, der seine Bewegungen auf das Gasventil überträgt;

d) durch einen in einem Quecksilberthermometer erzeugten elektrischen Kontakt.

a) Die Quecksilberregulatoren mit Regulierraum (Fig. 133a, b, c) sind die gebräuchlichsten. Sie halten die Wärme auf Bruchteile eines Grades genau gleichmäßig und bestehen aus zwei Teilen, einem unteren Regulierraum R mit eingeschmolzener Glasspirale (punktiert gezeichnet) und einem Gasraum G, in den das Gaszuführungsrohr Z eingesteckt ist und von dem das Gasabführungsrohr A zum Brenner geht. Das Zuführungsrohr besitzt einen Notauslaß n und endigt unten entweder quer abgeschnitten oder mit einem schlitzförmigen Ausschnitt. Der Regulierraum R ist vom Fabrikanten bei Zimmerwärme zu etwa $^{11}/_{12}$ seines Inhalts mit Quecksilber gefüllt worden, der übrigbleibende Raum enthält eine Flüssigkeit und deren Dämpfe. Diese muß je nach den Temperaturen, bei denen der Thermoregulator wirken soll, verschieden genommen werden; sie ist für:

20—24° Aethylchlorid	75—90° ein Gemisch von Alkohol und Wasser
30—40° Aether	90—100° Wasser
40—60° ein Gemisch von Aether und Alkohol	120—150° ein Gemisch von Anilinöl mit Wasser oder reines Anilinöl.
60—75° Alkohol	

Diese Flüssigkeiten drücken bei den bestimmten Wärmegraden die Quecksilbersäule nach oben, so daß sie den Ausgang des Gaszuführungsrohrs verschließt, und das Gas nur durch das Notloch n entweichen und eine Reserveflamme speisen kann. Diese Reserveflamme kann bei den besseren Instrumenten auf verschiedene Größe eingestellt werden, entweder mit einer Schraube oder wie in der Fig. b und c mittels eines an einem Zweigrohr angebrachten Hahnes H.

Einstellung des Thermoregulators. Ein hohes becherförmiges Gefäß wird mit Wasser gefüllt und der Thermoregulator mit einer Klemme an einem Stativ befestigt eingesenkt, so daß sein Regulierraum R vollständig unter Wasser taucht. Daneben wird von einer zweiten Klemme ein Thermometer gehalten. A wird mit einem nicht durchschlagenden, z. B. einem Reischauerschen Mikrobrenner verbunden, Z mit der Gaszufuhr. Dann wird die Flamme angezündet. Sobald das Thermometer einige Zehntelgrade unter der Temperatur

Digitized by Google

zeigt, die man haben will, wird das Rohr Z so weit eingeschoben, bis die Flamme anfängt, kleiner zu werden. Hierauf wird noch einige Stunden beobachtet und das Rohr Z allenfalls noch eine Spur mehr oder weniger eingeschoben, bis die gewünschte Temperatur gleich bleibt.

Die Einhaltung der genauen Einstellung ist bei Instrumenten mit Korkstopfen (Fig. 133a) nicht wohl möglich. Deshalb tragen feinere Instrumente einen Metallkopf mit Stopfbüchsenführung, ihr Gaszufüh-

Fig. 134.

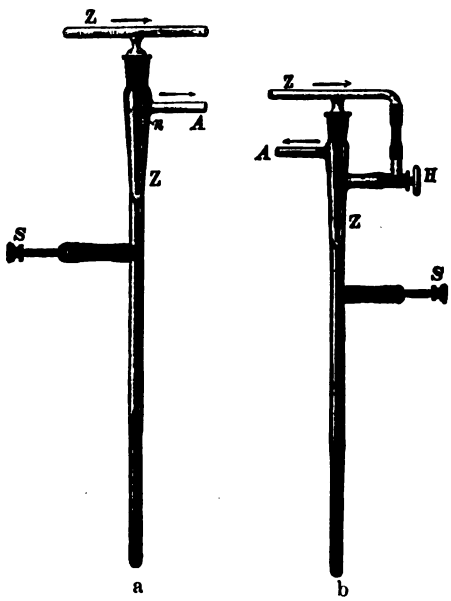
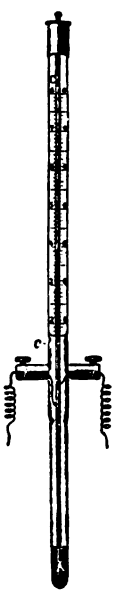


Fig. 135.



rungsrohr ist mit einer Millimeterteilung versehen und wird mit einer Schraube an der bestimmten Stelle festgeklemmt.

Der Regulator soll niemals nackt in den Wassermantel des Brütschranks eingesenkt werden, damit bei einem zufälligen Zerbrechen das Quecksilber nicht in den Metallmantel läuft und ihn zerstört. Es wird erst eine Messinghülse eingehängt, die oben ein seitliches Loch hat, damit sie sich mit Wasser füllen kann; sie ist hart gelötet und so tief, daß der Thermoregulator noch mit dem größeren Teile des Raumes G in sie taucht.

b) Der Reichertsche Quecksilberregulator (Fig. 134a und b) gewährt einen größeren Spielraum für die einzuhaltende Temperatur; man kann ihn für Wärmegrade von 30 bis 150° gebrauchen, aber nur für kleine Apparate, denn die Gasdurchgänge sind ziemlich eng. Auch darf man von ihm keine größere Genauigkeit als für ganze Grade verlangen. Er wird in verschiedener Ausführung geliefert; die gebräuchlichste Form ist die der Fig. 134. Er besteht aus zwei Teilen, einem unteren Quecksilbergefäß mit Hebeschraube S und einem oberen Gasgefäß mit eingeschliffenem Gaszuführungsrohr Z und Gasabführungsrohr A. Bei der Einstellung wird nach Erreichung der gewünschten

Digitized by Google

Temperatur die Quecksilbersäule durch die Hebeschraube S gehoben oder gesenkt, bis sie die Oeffnung des Gaszuführungsrohres Z berührt. In Z befindet sich das übliche Notloch n, bei besseren Instrumenten (Fig. 134b) ein Abzweigrohr mit Glashahn H zur Regulierung der Reserveflamme.

c) Der Regulator nach E. Roux besteht aus einem U-förmigen gebogenen Stab, der aus zwei Metallen, Zink und Stahl, zusammengesetzt ist. Ein derartiger Stab verändert seine Lage bei schwankenden Temperaturen so bedeutend, daß er mit seinen auf einen Stift übertragenen Exkursionen die Gaszufuhr freigeben oder verschließen kann. Er wird hauptsächlich in Frankreich verwendet und eignet sich mehr für große Apparate oder für Brützimmer. Neben der von ihm regulierten Flamme muß stets eine Reserveflamme aus einer besonderen Leitung brennen, damit sich das nach vorübergehender Abschließung freigegebene Gas an ihr wieder entzünden kann.

d) Elektrische Regulatoren bestehen aus einem Kontaktthermometer der Fig. 135, einem Gasschließer mit Elektromagneten und einem Gasbrenner. Das Thermometer läßt sich für jeden Grad einstellen; es bietet den Vorteil, daß man zu jeder Zeit mit beliebiger Temperatur arbeiten kann, ohne verschiedene Regulatoren nötig zu haben. Doch ist zu bemerken, daß die jedesmalige Einstellung und die Handhabung des Apparates sehr sorgfältig geschehen muß und für den Ungeübten nicht leicht ist.

Bei der Einstellung des Kontaktthermometers (Fig. 135) schleudert man die Quecksilbersäule vorsichtig wie bei einem Fieberthermometer in die Kugel K zurück und vereinigt getrennte Quecksilberkügelchen durch wiederholtes vorsichtiges Neigen. Selbstverständlich läßt sich die Quecksilbersäule nicht tiefer hinabschleudern, als ihrem Stande bei der jeweiligen Zimmertemperatur entspricht. Dann stellt man das Thermometer in eine Flüssigkeit, die etwa 5 bis 10° über die Temperatur erwärmt ist, die man haben will. Beim Hineinhalten achte man genau auf den Moment, wo das Quecksilber den bestimmten Temperaturgrad erreicht hat, und nehme in diesem Augenblick das Thermometer sofort aus dem warmen Wasser heraus. Diese Maßnahme ist folgendermaßen begründet:

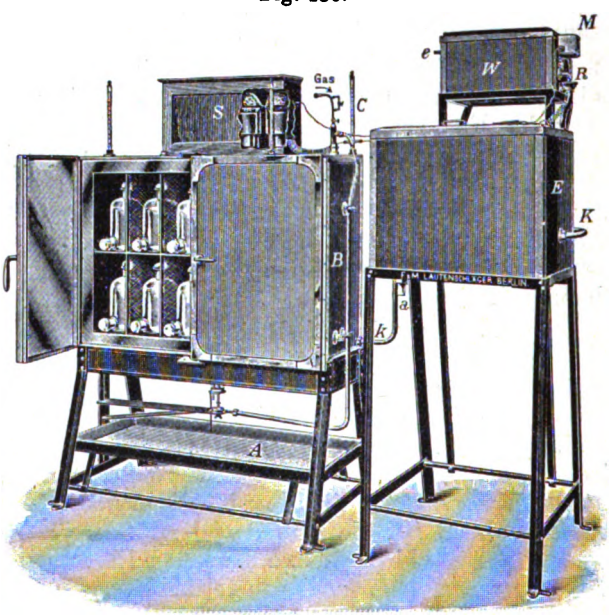
In der Kapillare C des Thermometers ist ein Glaskrümelchen c wandständig eingeschmolzen; an diesem kann das erwärmte Quecksilber ungehindert vorbei in die Höhe steigen, beim Erkalten aber reißt der zurückgehende Quecksilberfaden an ihm ab. Eine Strecke unterhalb c ist der Platinkontakt a und weiter unten der Platinkontakt b eingeschmolzen. Um so viel, als die Länge der Strecke c bis a beträgt, ist die Skala des Thermometers vom Fabrikanten höher gestellt worden. Entspricht die Strecke beispielsweise einem Raume von 7 Gradteilen der Skala, so wird das warme Wasser, in dem die Einstellung des Thermometers bewirkt wird, auf mindestens 44,5° temperiert werden müssen, wenn man bei 37,5° Stromschluß haben will; das Thermometer aber muß aus dem Wasser genommen werden, sobald der Quecksilberfaden an dem Grad 37,5 der Skala angekommen ist, dann wird bei 37,5° immer wieder Stromschluß eintreten. Bei Kontaktthermometern für Desinfektionszwecke (s. bei Desinfektion), wo eine Temperatur von

Digitized by Google

mindestens 100° erreicht werden soll, wird man zur Einstellung eine Flüssigkeit nehmen müssen, die über 100° siedet, z. B. Kochsalzlösung, Paraffinöl u. dergl. Für solche Untersuchungen hat man ein Thermometer mit Skala über 100° nötig; denn die für Brütschränke gefertigten gehen gewöhnlich nicht so weit.

Brütschränke für Einhaltung einer bestimmten Temperatur von 20 bis 24° arbeiten mit solchen elektrischen Kontaktthermometern, nur wirkt hier der bei Stromschluß in Bewegung gesetzte Elektromagnet nicht auf einen Zufluß von Leuchtgas, sondern von Wasser, und zwar in der Art, daß bei Erreichung einer bestimmten Höchst-

Fig. 136.



temperatur, z. B. 24°, der Wasserzufluß freigegeben wird und den an seiner höchsten Stelle mit einem Ueberlauf nach der Kanalisation zu versehenen Wassermantel des Brütschranks kühlt. Ist diese Kühlung bis unter die eingestellte Temperatur eingetreten, dann sinkt die Quecksilbersäule, die Elektromagnetwirkung hört auf und ein Ventil verschließt den Wasserzulauf. Ein solcher Brütschrank ist bereits in unseren Klimaten für die warme Jahreszeit erwünscht, wenn man mit Gelatinekulturen arbeitet; man kann ihn auch gleichzeitig heizen und muß dann die Gasflamme mit einem besonderen, am geeignetsten einem Quecksilberregulator mit Aethylchlorid (s. oben) verbinden. Mit diesem ausgestattet, leistet er im Winter sehr gute Dienste, wo im Zimmer nicht immer gleichmäßige und oft zu niedrige Temperaturen vorhanden sind. Er wird in meinem Institut in der kalten und in der heißen Jahreszeit benutzt und hat sich sehr bewährt; die Mehrkosten von etwa 150 Mk. sind verhältnismäßig nicht hoch.

In warmen Ländern ist ein solcher Brütschrank unbedingt er-

Digitized by Google

forderlich. Dort reicht aber die Temperatur der Wasserleitung, wo eine solche vorhanden, oft nicht zur Kühlung und man muß Eis zu Hilfe nehmen. Die gesamte Einrichtung zeigt die Fig. 136:

Der Apparat besteht aus 4 Teilen, es sind: 1. ein Brütschrank B mit Thermoregulator für Gas, sowie einem Kontaktthermometer C, Mikrosicherheitsbrenner und darunter Auffangschale A für das Schwitzwasser aus der Flamme. Das Ueberlaufrohr nach der Kanalisation ist auf dem Bilde nicht zu sehen.

2. Ein Eisbehälter E; er enthält in seinem Innern eine Rohrschlange und darüber einen Einsatz mit Eis, dessen Tropfwasser die Schlange zu kühlen hat. Für den Ablauf des Schmelzwassers ist ein teleskopartiges Rohr (nach H. Bitter) vorhanden, das nach Bedarf höher oder tiefer gestellt werden kann und bei a seinen Auslauf hat; dieser ist mit dem Ueberlauf des Brütschrankes vereinigt an die Kanalisation anzuschließen. Die Kühlschlange hat ihr Ueberlaufrohr bei k.

3. Ein Wasserzuflußbehälter W. Der Wassereinlaufstutzen e ist innen mittels Verschraubung mit einem Schwimmkugelhahn verbunden, der sich je nach Bedarf öffnet und schließt. An der einen Seite des Kastens befindet sich ein Elektromagnet M mit Vorlage, die durch einen Wagebalken mit einem Ventil verbunden ist. Unterhalb des Elektromagneten befindet sich ein Auslaufrohr R für das Kühlwasser, das zunächst in einen Trichter einströmt und von da nach der Kühlschlange K im Behälter E geht.

4. Ein Batteriekasten mit vier Meidinger-Elementen S. Die Batterie ist mit dem Kontaktthermometer C und dem Elektromagneten M zu einem Stromkreis verbunden. Sobald die eingestellte Temperatur erreicht ist, tritt Stromschluß ein, die Vorlage des Elektromagneten wird angezogen, dadurch das Wasserventil geöffnet und Wasser durch den Kühlapparat E nach dem Brütschrank B geschickt. Ist dieser genügend abgekühlt, dann wird durch Sinken der Quecksilbersäule im Kontaktthermometer der Stromkreis und damit die Kühlwasserzufuhr unterbrochen. In heißen Klimaten braucht man für gewöhnlich die Lampe auch während der Nacht nicht anzuzünden. In unseren Gegenden dagegen ist der Eisbehälter entbehrlich, das genügend kühle Leitungswasser fließt von R unmittelbar in die Wand des Brütschrankes.

Brütschränke für elektrische Heizung sind mit einer Heizplatte versehen, die dicht an den Boden unten und außen angeschraubt ist. An der freien Seite ist sie mit einer Emailschicht überzogen, die nahezu denselben Ausdehnungskoeffizienten wie das Eisen hat; in diese sind die Widerstandsdrähte eingeschmolzen. Ein Brütschrank ist gewöhnlich mit zwei solchen für Ströme von 2 bis 6 Ampère Stärke eingerichteten Platten versehen, von denen die eine zum schnellen Anwärmen, die andere zum Konstanthalten der Wärme benutzt wird. Die letztere ist mit dem Regulator verbunden.

Der **Regulator für elektrische Heizung** (Fig. 137) arbeitet mit einer leicht siedenden Flüssigkeit, die eine Quecksilbersäule hoch- oder niedergehen läßt. Die steigende Säule hebt einen elfenbeinernen Schwimmer S und unterbricht auf diese Weise den Strom. Die beiden stromzuführenden Klemmen p und n sitzen an je einem Rohrstutzen;

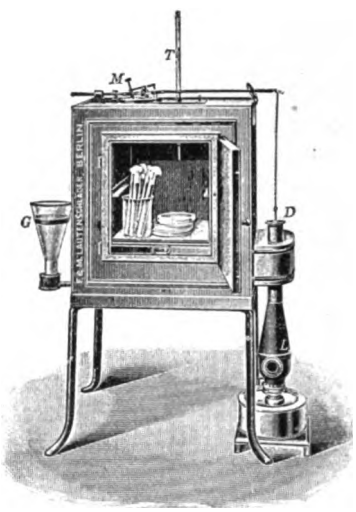
LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Digitized by Google

zwischen die beiden Rohrstutzen ist eine Isoliermasse J eingeschaltet, die auch die innere Wand derselben auskleidet. Durch das frei bleibende Lumen geht ein mit dem Schwimmer verbundener Metallstab, der ein Ansatzstück mit Kontaktstiften K trägt. Der Schwimmer ist durch ein mit Hartgummi isoliertes Gewicht G ausbalanciert und am Ansatzstück K mit dem Gewicht durch einen Golddraht verbunden, der über eine Rolle läuft. Die Rolle ist durch ihren Träger mit dem unteren Rohrstutzen leitend verbunden. Der Strom geht so lange durch die Heizplatte, als die auf dem oberen Rohrstutzen liegenden

Fig. 137.

Fig. 138.



Kontaktstifte K die Leitung unterhalten. Steigt das Quecksilber und hebt es die Kontaktstifte K ab, dann ist der Strom unterbrochen.

Brütschränke für Petroleumheizung. Die untergestellte Petroleumlampe darf keine Glasteile haben; der Behälter ist aus Metall; das Petroleum wird durch einen mit Schraube verschlossenen Rohrstutzen eingefüllt. Der Zylinder ist ebenfalls aus Metall und trägt ein Glimmerfenster. Der Brenner kann je nach dem Wärmebedarf einen flachen oder runden Docht haben. Für einfache Zwecke genügt die Einstellung der Flamme derart, daß die Temperatur nicht höher als auf 38° steigen kann. Es gibt auch hier Wärmeregler.

Ein Thermoregulator geeigneter Ausführung ist in Fig. 138 dargestellt. Der Brütschrank ist nur in seinen unteren Teilen mit Wasser gefüllt bis zu einer Höhe, die an dem kölbchenförmigen Wasserstandsgefäß bei G zu erkennen ist, und besitzt eine seitliche Ausbuchtung, unter der die Lampe steht. Im Innern des nutzbaren Brütraums liegt dicht unter der Decke eine Anaeroidkapsel, die ihre Bewegung auf ein Hebelgestänge M überträgt. Dieses bewegt einen Deckel D über der Lampe, die Verbrennungsgase, die an der entgegengesetz-

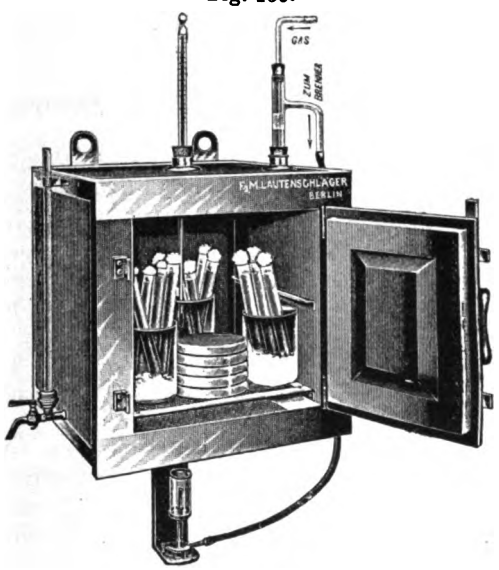
Digitized by Google

ten Wand des Brütschranks ihren Ausgang haben, müssen, solange dieser Deckel geschlossen ist, durch den Mantel des Apparates streichen und ihn erwärmen. Steigt die Temperatur zu hoch, dann wird der Deckel gehoben und die Verbrennungsgase ziehen unmittelbar nach oben ins Freie.

Auch elektrische Kontaktthermometer lassen sich verwenden. Der Elektromagnet, der bei Erreichung der gewünschten Temperatur durch Stromschluß in Tätigkeit tritt, schiebt eine Hülse über den Docht nach oben und verkleinert dadurch die Flamme.

Auswahl eines Brütapparates. Für die Bedürfnisse eines praktischen Arztes oder Tierarztes genügt ein Schrank der Fig. 139 aus

Fig. 139.



Kupferlegierung mit doppelter Wandung und nutzbarem Raum von 20 × 20 × 20 cm, der mit Thermoregulator der Fig. 133 a, Mikrobrenner und Thermometer um etwa 60 Mk. zu haben ist.

Für kleinere Arbeitsstätten empfehlen sich Apparate aus Kupfer von 41 × 25 × 25 cm mit Brennerschutzkasten.

Für größere etwa doppelt so große mit 2 Türen, allenfalls noch ein zweiter oder dritter kleinerer, darunter jedenfalls einer, der für 20 bis 24° eingestellt ist.

Für große Laboratorien wird man Apparate von 60 × 50 × 40 oder selbst 80 × 60 × 50 cm Innenmaß nehmen. Diese Schränke sind schon so teuer, daß man sich überlegen wird, ob man nicht lieber gleich ein Brützimmer einrichten soll.

Brützimmer sind in großen Instituten, wie im Kochschen oder im Pasteurschen im Gebrauch. Sie werden am besten in einen vorhandenen Raum eingebaut und bestehen aus doppelten Holzwänden, die mit Isoliermasse gefüllt sind. Die Erwärmung geschieht durch eine

Digitized by Google

Warmwasserheizung mit Zirkulationsofen, die Beleuchtung nur beim Betreten des Raums mit elektrischem Licht.

Bei der **Beschaffung von Brütapparaten** wende man sich nur an ganz zuverlässige Firmen und scheue sich nicht vor einer einmaligen größeren Ausgabe. Die hier beschriebenen inneren Einrichtungen für Erwärmung und Wärmezirkulation, für gleichmäßige Warmhaltung durch gute Isolierung und zweckmäßige Brennereinrichtung, überhaupt das ganze Material, das zur Herstellung verwendet wird, erfordern große Sorgfalt in der Auswahl und Gediegenheit in der Herstellung. Durch Ersparung an Heizmaterial und Reparaturkosten kommt ein Teil der höheren Anschaffungskosten mit der Zeit wieder ein. Der Abnehmer muß sich auf die Firma verlassen können, denn er ist nicht im stande, ins Innere der Doppelwand hineinzusehen. Um billigen Preis kann man vollwertige Apparate nicht verlangen.

Züchtung unter Ausschluß von Sauerstoff.

Obligate Anaerobier finden, wenigstens in Reinkulturen, bei Anwesenheit von Sauerstoff ihre Wachstumsbedingungen nicht, sie gedeihen bloß bei möglichst weitgehendem Ausschluß dieses Gases; sie bilden das Gegenstück zu den auf das Vorhandensein von Sauerstoff unbedingt angewiesenen obligaten Aerobiern. Zwischen beiden finden sich alle möglichen Abstufungen im Sauerstoffbedürfnis, man spricht von fakultativen Anaerobiern oder fakultativen Aerobiern, je nachdem die einen dieser, die anderen jener Gruppe näher stehen und leichter bei Luftausschluß als bei Sauerstoffanwesenheit oder umgekehrt fortzukommen vermögen.

Wie oben angedeutet, können selbst obligate Anaerobier ohne strengen Luftabschluß gedeihen, wenn sie mit anderen Mikroorganismen zusammenleben, wie es unter natürlichen Bedingungen meistens der Fall ist (s. W. Scholtz ZfH. 27. 132). G. Tarozzi beobachtete sogar Wachstum, wenn der gewöhnlichen Bouillon lediglich ein Stück frischen ausgeschnittenen Gewebes eines gesunden Tieres, selbst nur für einige Zeit, zugesetzt worden war (C. 38. 619).

Die Anaerobier brauchen wie alle anderen Lebewesen Sauerstoff; M. W. Beijerinck wollte deshalb nicht zwischen Anaerobiern und Aerobiern, sondern zwischen aerophilen und mikroaerophilen Bakterien unterschieden wissen (r. C. II. 6. 341). Die verschiedenen Arten sind auf eine verschiedene Tension des Sauerstoffs angewiesen, manche werden von einer schwankenden Sauerstoffspannung nicht oder nur wenig berührt, die obligaten Anaerobier aber beanspruchen eine außerordentlich geringe Tension, deren Optimum für die einzelnen wahrscheinlich auch noch verschieden ist, so daß sie beim Sinken der Spannung unter einen gewissen Punkt mit dem Nachlaß ihrer Lebenserscheinungen, beim Steigen darüber mit gänzlicher Einstellung der Entwicklung reagieren. Eine Gewöhnung an etwas größere Sauerstoffspannung scheint vorzukommen. Den für ihr Leben notwendigen Sauerstoff können sich diese Bakterien aus dem Substrat freimachen (s. A. Wolff r. C. 33. 792; C. Fermi und E. Bassu C. 38. 375).

Digitized by Google

Bei der Züchtung hat man immer dafür zu sorgen, daß der Sauerstoff so vollkommen als möglich aus den Gefäßen und Nährböden entfernt wird, da es ohnehin kaum gelingt, die Nährböden und Glasgefäße, an deren Oberfläche immer etwas Sauerstoff haften bleibt, vollkommen davon zu befreien, und da sich die Anaerobier die nötigen Bedingungen für ihr weiteres Fortkommen bereits bei den ersten Anfängen des Wachstums zu verschaffen suchen, wenn sie daran nicht durch eine zu große Sauerstoffspannung gehindert sind.

Die Apparate, die zur Anlegung von Kulturen unter Sauerstoffabschluß angegeben worden sind, einzeln zu beschreiben, würde den Rahmen dieses Buches überschreiten. Diejenigen sind die besten, die bei möglichster Einfachheit der Konstruktion und Handhabung eine absolut sichere Abdichtung gegen die Außenluft erreichen lassen. Es sollen im folgenden nur einige wenige erwähnt werden, die bei den empfehlenswerten Methoden heute noch allgemeiner im Gebrauche sind.

Züchtungsverfahren.

Grundbedingung ist, daß die Nährböden luftfrei sind. Auskochung vor jedem Gebrauch ist unbedingtes Erfordernis, dies gilt nicht bloß für die Nährmedien, sondern auch für alle Flüssigkeiten, die zur Absorption des Sauerstoffs im Kulturgefäß verwendet werden.

Zusatz von Methylenblau zu einer Probe läßt erkennen, ob dieser Forderung entsprochen ist. Die Methode stammt von G. Kabrhel; Entfärbung zeigt an, daß aller Sauerstoff beseitigt, Wiedereintritt der Färbung, daß nachträglich Sauerstoff eingedrungen ist. Der mit einigen Tropfen alkoholischer Methylenblaulösung vermischte Nährboden kann ohne wesentlichen Schaden für die Kultur verwendet werden (C. 25. 555).

Zusatz von Reduktionsmitteln ist der Entwicklung der Anaerobier förderlich. Den in dieser Hinsicht gebrauchten Zucker (1 bis 2 %), sowie das Glyzerin erklärte E. v. Hibler als unnötig, ja als nachteilig für die Sporenbildung und das pathogene Vermögen (C. 25. 526, s. auch A. Ucke r. Jahrber. 14. 787). Von S. Kitasato und Th. Weyl ist, wenigstens für bestimmte Anaerobier (Tetanus, Rauschbrand, maligne Oedembazillen), ameisensaures Natron zu 0,3 bis 0,5 % oder indigoschwefelsaures Natron zu 0,1 % als brauchbar angegeben worden (ZfH. 8. 41).

Hirnbrei, aus zerkleinertem Gehirn und Wasserzusatz bis zur Halbflüssigkeit bereitet und in hoher Schicht in Kölbchen gefüllt, nach halbstündiger Sterilisierung und folgender Abkühlung sogleich geimpft, fand E. v. Hibler zur Feststellung von Artunterschieden geeignet. Viele Arten machen bei ihrem Wachstum den durch Blutbeimengung eisenhaltigen Nährboden alkalisch und färben ihn durch Schwefelwasserstoffbildung schwarz, einige hingegen lassen ihn unverändert (C. 25. 513).

Anaerobiose kann auf viererlei Wegen herbeigeführt werden, durch: 1. Ausschluß der Luft; 2. mechanische Entfernung der Luft; 3. Entfernung des Luftsauerstoffs auf chemischem Wege; 4. Ersatz durch ein indifferentes Gas (Wasserstoff).

Digitized by Google

1. **Ausschluß der Luft.** R. Koch legte auf die eben erstarrende Gelatineplatte ein Blatt Marienglas oder Glimmer, das möglichst dünn gespalten sein und mindestens ein Drittel der Gelatineoberfläche in der Mitte decken soll, damals um nachzuweisen, daß die sauerstoffliebenden Choleravibrionen unter solchen Bedingungen nicht wachsen (BkW. 84. 480). Für Anaerobier ist diese Methode weniger geeignet, da allmählich Luft unter die Glimmerscheibe diffundiert.

In der Tiefe des Nährbodens versuchte zuerst G. Gaffky (KGA. Mittlg. 1. 91) die Bazillen des malignen Oedems bei Brütschrankwärme zur Entwicklung zu bringen, indem er ein Stückchen einer von ihnen durchsetzten Mausleber ins Innere einer gekochten Kartoffel brachte und die Höhlung mit Kartoffelmasse wieder verschloß. In der Tiefe von festen durchsichtigen Nährböden glückte es später W. und R. Hesse, Kulturen derselben Bazillen aus dem Unterhautzellgewebe der Maus zu erzielen (DmW. 85. 214). Daraus entwickelte sich die Methode der „Züchtung in hoher Schicht" des Nährbodens (P. Liborius ZfH. 1. 115).

Die **Züchtung in hoher Schicht** ist die einfachste für die Fortführung von Reinkulturen. Man füllt ein Röhrchen bis über die Hälfte seiner Höhe mit Nähragar oder -Gelatine, treibt durch Auskochen die Luft aus und sticht nach dem Starrwerden mit einem infizierten langen Platindraht (S. 19, Fig. 26 links) ein. Etwaiges Wachstum macht sich dann etwa 1 cm unter der Oberfläche im übrigen Stich bemerklich.

Oder man nimmt ein gewöhnliches nur etwa 8 ccm Nährmaterial enthaltendes Röhrchen, kocht es im Wasserbad aus, läßt erkalten, impft und schichtet danach den Inhalt eines anderen Röhrchens darüber. Bei der späteren Abimpfung wird zunächst diese obere Hälfte mit dem Platinspatel entfernt. Auch Gelatinekulturen werden mit Agar (verflüssigt und auf etwa 45° abgekühlt) überschichtet, und selbst mit Bouillonkulturen kann man das machen, wenn man den Inhalt zuvor durch Eintauchen des Röhrchens in eine Kältemischung zum Gefrieren gebracht hat; nur soll man hier wegen des Volumwechsels, der beim Auftauen eintritt, zur Sicherheit die erste darüber gegossene Agarschicht nach dem Erstarren abermals mit einer Agarschicht etwa 3 cm hoch überschichten und durch Einstellen in kaltes Wasser für baldige Erstarrung sorgen (Verfahren nach A. Ghon und M. Sachs C. 32. 403).

Zur **Trennung der Keime** aus einem Gemisch hat Veillon die bekannten Kochschen Verdünnungen (s. S. 117) in einer größeren Reihe, etwa 8 bis 10, gemacht, das hochgeschichtete Medium erstarren lassen und nach erfolgter Entwicklung einzelne Kolonien mit einer sterilisierten dünnen Glaspipette durch Einstechen herausgefischt (E. Rist C. 30. 287). Die Verdünnungen können auch in Reagenzgläschen mit der üblichen Menge Nährboden (etwa 8 ccm) angelegt werden, wobei nur das Umschütteln möglichst einzuschränken ist; sie werden dann in der vorhin angegebenen Weise mit ungeimpftem Agar überschichtet. Sollte beim Fischen der gewachsenen Kolonien die Möglichkeit vorliegen, daß man andere sichtbare oder vielleicht auch noch unsichtbare Kolonien mit getroffen hat, so lege man mit dem abgeimpften Material nochmals eine Verdünnungsserie in hoher Schicht an.

Digitized by Google

Vorgängige Erhitzung ist von verschiedenen Untersuchern angewendet worden, um Verunreinigungen im Aussaatmaterial tunlichst zu beseitigen, und zwar wurde entweder dieses selbst oder das bereits geimpfte erste Röhrchen ½ Stunde im Wasserbad von 80° erwärmt. Bei dieser Temperatur sterben alle nicht sporentragenden Bakterien ab; so hat S. Kitasato die zur Sporulation vorgeschrittenen Tetanuskeime von nicht sporentragenden Begleitbakterien, wie pyogenen Kokken u. a., zu trennen vermocht (s. auch bei Tetanus). Das ist natürlich nur erfolgversprechend, wenn bloß eine Art von Sporenbildnern vorhanden ist.

2. Die **mechanische Entfernung** der Luft ist zuerst von M. Gruber durch Erwärmung erzielt worden; andere Autoren haben die Kulturgefäße vollständig mit Flüssigkeit gefüllt, sei es durch einfaches Ansaugen, sei es (bei Rollröhrchen) durch Ausgießen des Hohlraums, sei es durch Erzeugung eines Vakuums vermittels Kondensation entwickelten Wasserdampfes. Alle diese Verfahren sind jetzt durch bessere überholt worden.

Fig. 140.

3. Die **Entfernung des Sauerstoffs** der Luft auf chemischem Wege ist von H. Buchner eingeführt worden.

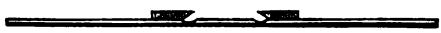
Reagenzglaskulturen. Auf den Grund eines größeren Rohres (Fig. 140) von etwa 22 bis 24 cm Länge und 3 cm Weite kommt ein kleines Gestell aus Draht und 1 g trockener Pyrogallussäure, darüber gießt man 10 ccm verdünnter Kalilauge (1 : 10), setzt unverzüglich das bereit gehaltene infizierte Kulturröhrchen auf das Gestell und ebenfalls sehr rasch einen elastischen, fest schließenden Kautschukpfropf, der an seinen Seitenwänden befeuchtet worden ist, auf das Rohr. Binnen 24 Stunden ist bei 37° die Absorption des Sauerstoffs erfolgt, bei 20° nach etwa 2 Tagen (C. 4. 149). Die verdünnte Kalilauge soll vor dem Eingießen durch Auskochen von Luft befreit werden. Die Sauerstoffabsorption gelingt sicherer, wenn man mehr Pyrogallol und eine größere Menge Kalilauge nimmt, als in der Fig. 140 angezeigt ist, so daß der Luftraum möglichst klein wird. Infolge der Absorption des Sauerstoffs entsteht ein Vakuum, und die Nährböden trocknen etwas aus. Die Methode ist auch für Kulturen im hängenden Tropfen und in Schälchen anwendbar.

Der **hängende Tropfen** wird nach M. Nikiforoff in der gewöhnlichen Weise angelegt, dann das Deckglas erst nach rechts zur Seite geschoben und mit einer Platinöse ein Tropfen starker Pyrogallollösung an die Berührungsstelle von Deckglas und Objektträgerausschliff gegeben, hierauf ebensoweit nach links geschoben und in derselben Weise ein Tröpfchen Kalilauge hineingebracht. Ist das Deckglas wieder in seine richtige Mittenlage gebracht worden, so lassen sich beide Tröpfchen durch leichtes Neigen vermischen, ohne daß der hängende Tropfen mit ihnen in Berührung kommt. Nach Einwirkung der Brüttemperatur aber bilden sich Tautröpfchen, die ein solches Zusammenfließen bewirken können. M. Nikiforoff schlug zur Ver-

Digitized by Google

meidung dessen vor, entweder F. E. Schultzesche Objektträger (Fig. 141) oder solche mit einer in der Peripherie des Hohlraums eingeschliffenen Rinne zu benutzen; die zentral stehenbleibende Glassäule muß bei ihnen so niedrig sein, daß der hängende Tropfen zwischen ihr und dem Deckglas noch Platz hat (ZfH. 8. 489). E. Braatz nahm Objektträger, die mit einem offen in den hohlgeschliffenen Raum mündenden kleinen Behälter verbunden sind, der mit etwa 5 g alkalischer Pyrogallollösung zu füllen ist. Das Deckglas soll außer mit

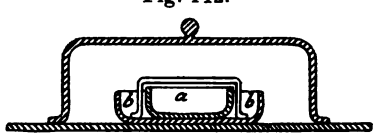
Fig. 141.



Vaselin noch mit einer geschmolzenen Mischung von 5 Teilen Wachs und 1 Teil Lanolin rings gedichtet werden (C. 8. 520).

Schälchenkulturen werden nach C. Arens in einen passenden Exsikkator auf schwarzes Glanzpapier gestellt. Der untere Teil wird mit nicht zu feinkörnigem Quarzsand gefüllt, dem beliebige Mengen Pyrogallussäure beigemengt sind, und zwar so weit, daß je nach Bedarf für eine oder mehrere kleine Petrischalen Platz bleibt. Nachdem man den Quarzsand in der Ausdehnung der Oberfläche mit nicht zu geringer Menge 10proz. Kalilauge übergossen hat, stellt man die Schälchen geöffnet ein und schließt rasch mit dem gut eingefetteten Deckel durch Rotieren. Das schwarze Glanzpapier läßt die zur Entwicklung kommenden Kolonien besser in die Erscheinung treten (C. 15. 15). L. Kamen nahm ein Präparatenglas von etwa 21 cm Höhe und 12,5 cm lichter Weite mit abgeschliffenem Rand, füllte es nicht ganz

Fig. 142.



bis zur Hälfte mit grobem Sand und vermischte diesen mit 50 g Pyrogallussäure. Wenn der Rand des Glases dick mit Vaselin bestrichen ist, benetzt man den Sand mit etwa 150 ccm 10proz. Kalilauge, setzt die Kulturschalen ohne Deckel hinein und legt rasch die Spiegelglasscheibe von 3 bis 5 mm Dicke auf. Da ein Gummiband, das anfänglich zur Festhaltung und Dichtung benutzt wurde, bald brüchig ward, ließ Kamen den Verschluß durch Schrauben und Klammern herstellen (s. C. 35. 560). 50 g Pyrogallussäure kosten etwa 1,75 Mk.!

R. Slupski setzte die Schälchen unter eine Glasglocke, die in einer weiteren Schale stand und dadurch gedichtet wurde, daß der äußere Zwischenraum mit heißem Paraffin ausgegossen und nach dem Erstarren noch flüssiges Paraffin darüber geschichtet wurde (C. 30. 396). L. Lange (HR. 03. 12) vereinfachte die Anordnung, die etwa folgendermaßen ausgeführt wird (Fig. 142):

Man nimmt eine Glocke von etwa 15 cm Dchm. und 5 cm Höhe, die unten einen etwa $1\frac{1}{2}$ cm breiten, auf eine Glasplatte aufgeschliffenen

Digitized by Google

Rand hat. Die Dichtung zwischen diesem und der Unterlagsplatte geschieht mit Mischwachs, bestehend aus 2 Teilen Schweinefett und 1 Teil Bienenwachs, das ziemlich dick aufgetragen wird. Wenn die Glocke über die Schälchen gestülpt ist, wird sie durch rotierende Bewegungen möglichst fest angepreßt und die Randfuge noch mit Mischwachs leicht bestrichen. Unter der Glocke befindet sich eine Doppelschale a und b; in a werden 25 g Pyrogallol gegeben, in b etwas destilliertes Wasser, um die Innenluft genügend feucht zu erhalten; die Schale b dient auch gegen Verschütten der Pyrogallollösung auf die Platte. Ueber der Doppelschale liegt ein Dreifuß von Glas, darauf etwas Filtrierpapier und eine Lage schwarzes Glanzpapier; auf dieses wird die Petrischale mit der besäten Fläche nach oben offen aufgestellt. Man kann auch eine Glasplatte auf den Dreifuß legen, auf der 3 bis 4 kleine Kulturschälchen mit Verdünnungen Platz haben.

Man gießt 50 ccm warmen Wassers über die 25 g Pyrogallussäure, wirft rasch zwei Stücke Kali caustic. fus. von etwa 14 g Gewicht hinein, stellt die Platte auf den Dreifuß, stülpt die Glocke über und dichtet gut ab.

H. Hammerl nahm eine Glasdose von 12 cm Dchm. und 9,5 cm Höhe, deren Glasdeckel mit eingeschliffener Rinne aufsitzt (nach F. Hofmann, zu haben bei W. P. Stender in Leipzig); die Dichtung erfolgt mit einer Mischung aus Wachs und Talg: 24 g Wachs werden mit 100 g Talg auf dem Wasserbade zusammengeschmolzen, nach der Erstarrung mit einem Messer in kleine Stücke zerschnitten und mit dem Pistill bis zur salbenähnlichen Beschaffenheit verrieben. In dieser Dose finden mehrere Schälchen übereinander Platz; das unterste wird auf einen Bieruntersatz aus Zellulose gelegt, der in folgender Weise getränkt wird: 20 g Pyrogallol werden in einem nicht zu weiten Becherglas abgewogen; in die Mitte des Pulvers läßt man mit einer Pipette 15 ccm 50proz. Kalilauge fließen und tränkt die Zellulosescheibe damit. Diese wird dann in der Dose auf etwa 5 mm hohe Leisten aus Holz, Pappe u. dergl. gelegt; auch die unterste Schale wird auf solche Leistchen gestellt, damit der Sauerstoff von beiden Flächen absorbiert werden kann (C. 31. 589).

Bei allen diesen Verfahren wird die alkalische Pyrogallollösung, wenn man auch noch so schnell arbeitet, von der Luft vorzeitig angegriffen und büßt dadurch einen Teil ihrer Wirksamkeit ein. Um dem zu begegnen, vermische man die Pyrogallussäure erst nach der Schließung des Kulturgefäßes mit der Kalilauge. Das hat wohl zuerst A. Ucke gemacht, indem er ein kleines Bechergläschen mit 10 g Pyrogallol in einem größeren auf etwa 50 ccm 20proz. Kalilauge schwimmen ließ und nach Schließung des von ihm angewendeten Novyschen, mit Wasserstoff gefüllten Apparates durch einen in der Glocke angebrachten Hahn ausgekochtes Wasser zufließen ließ, bis das kleine Schälchen zum Sinken kam (C. 23. 996). Ich gebe die Pyrogallussäure als wäßrige Lösung ein und stelle ein kleines Gläschen mit Kalilauge oder einem Stück Aetzkali so auf, daß es bei einem leichten Anstoß an die geschlossene Glocke in die Lösung hineinfallen muß.

4. Der **Ersatz der Luft durch ein unschädliches Gas**, und zwar durch Wasserstoff (G. Hauser), ist, nachdem sich andere Gase,

Digitized by Google

wie Kohlensäure, Leuchtgas oder einzelne seiner Bestandteile, nach den Untersuchungen von C. Fraenkel (ZfH. 5. 333), P. Frankland (ZfH. 6. 13), Ph. Kladakis (r. C. 8. 23) u. a. als ungeeignet, weil für die Mikroorganismen schädlich, erwiesen hatten, neben dem Pyrogallolverfahren oder mit ihm kombiniert, das beste, hat nicht den Nachteil, die Nährmittel auszutrocknen, und ist am allgemeinsten verwendbar. Man bedient sich deshalb seiner in ausgedehntem Maße, und zahlreich sind die dazu ersonnenen Methoden und Apparate. Von den Einwänden F. Hueppes, daß das Gas nicht sicher für alle Bakterien indifferent sei, daß es zu sekundären Umsetzungen und dadurch zu Störungen führe, daß es endlich über die Gasbildung seitens der Mikroorganismen kein Urteil zulasse, ist nur der letztere berechtigt, aber für die große Mehrzahl der Untersuchungen nicht einschlägig.

Wasserstoffgas kann durch Entwicklung aus Zink und verdünnter Schwefelsäure erhalten werden. Am geeignetsten ist dazu der Kippsche Apparat.

Das untere Gefäß wählt man, wie in der Fig. 145, S. 152, ohne seitliche Tubulatur, weil eine solche nur zu Undichtigkeiten Anlaß geben kann. Ins mittlere Gefäß gibt man durch die seitliche Oeffnung Zinkstäbchen oder granuliertes Zink (erhalten durch Eingießen des geschmolzenen Metalls in kaltes Wasser unter Umrühren mit einem Besen). Zum Schutz gegen Durchfallen ins untere Gefäß liegt über der Verengung eine Kautschukplatte mit zentralem Loch zum Durchstecken des vom oberen Gefäß nach unten führenden Trichterrohres. Das obere Gefäß dient zum Eingießen der Säure und ist mit Kautschukstopfen und Sicherheitsrohr versehen.

Die Füllung erfolgt mit einer Mischung von 1150 ccm Wasser und 250 ccm Schwefelsäure. Die Bereitung dieser Mischung geschehe in einem Becherglase, das in einer Glasschale auf Papier steht. Die Schwefelsäure muß in das Wasser gegossen werden, nicht umgekehrt, sonst kann ein Unglück passieren! Ist die Mischung abgekühlt, so schließt man erst den Hahn am knieförmig gebogenen Auslaßrohr, gießt die verdünnte Schwefelsäure langsam ein und setzt das Sicherheitsrohr aufs obere Gefäß. Wird nun der Hahn geöffnet, dann steigt die Säure zum Zink auf und die Gasentwicklung beginnt. Schließt man nach etwa 5 Minuten, wenn der Wasserstoff die Luft verdrängt hat, den Hahn, dann wird das weiter entwickelte Gas die Flüssigkeit vom Zink wegdrücken und so die fernere Entwicklung unterbrechen. Wenn die Gasentwicklung nach längerem Gebrauche nicht mehr ordentlich gehen will, wird die Säure durch frische ersetzt; gleichzeitig gibt man einige Tropfen Platinchloridlösung, die katalytisch wirkt, hinzu. Später muß auch das Zink erneuert werden.

Zur Reinigung des entwickelten Gases dienen einige Vorlagen, die drei in der Fig. 145 stehenden enthalten der Reihe nach eine 10proz. Lösung von Bleinitrat, eine 10proz. von Silbernitrat und die dritte Pyrogallussäure (etwa 3 g), die, wenn die Gasentwicklung bereits im Gang ist, mit verdünnter Kalilauge übergossen wird. Das lange Rohr ist immer das zuführende und muß mit dem vorhergehenden durch einen kurzen, mit Paraffin überzogenen Gummischlauch verbunden sein. Vom letzten Glase geht ein längerer Gummischlauch mit Quetschhahn an ein U-förmiges Rohr, wie in Fig. 145 leicht zu erkennen ist. Als Probe auf die Dichtigkeit des Ganzen wird das Ausführungsende des letzten Gummischlauches zugedrückt: die Säure im Apparat muß dann augenblicklich vom Zink weg im Trichterrohr hochsteigen.

Das Wasserstoffgas kann auch in Bomben bezogen werden. Da der elektrolytisch gewonnene Wasserstoff oft noch mit Sauerstoff verunreinigt ist, muß dieser weggeschafft werden, wozu A. Ghon und M. Sachs nach P. Albrecht einen Verbrennungsapparat einschalteten. Weitere Waschflaschen sind dabei unnötig. Das von 3 Flammen ge-

Digitized by Google

heizte Verbrennungsrohr enthält eine Kupferspirale, die im glühenden Zustande den Sauerstoff aufnimmt. Nähere Beschreibung im C. 32. 410.

Während der Entwicklung von Wasserstoff und beim Durchleiten durch die Apparate sei man sehr vorsichtig mit der Flamme, bis man sicher ist, daß das Gas vollkommen von Sauerstoff befreit ist. Man hat sonst gefährliche Knallgasexplosionen zu gewärtigen! Die Prüfung geschieht bekanntlich durch Füllen eines Reagenzröhrchens in umgekehrter Lage mit dem leichten Gas; es ist rein, wenn es aus dem Reagenzglas beim Anzünden ohne jeden Knall brennt.

Reagenzglaskulturen. G. Hauser*) benutzte zur Wasserstoffdurchleitung Gläser mit seitlichem Ansatz, P. Liborius Röhrchen von der Form der Fig. 143. Die bei größerem Bedarf etwas kost-

Fig. 143.

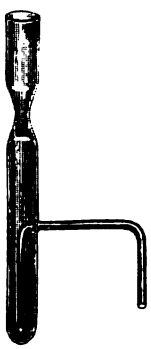
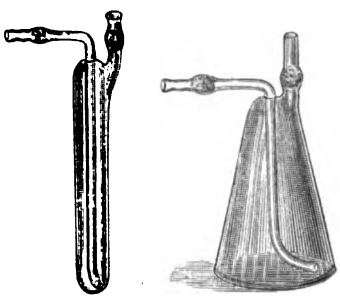


Fig. 144.



spielige Vorrichtung ist, wie die ähnliche von Petri und Maaßen (KGA. Arb. 8. 314; s. Fig. 144), nur wenig mehr im Gebrauch, da man sie mit vorhandenen Laboratoriumsgegenständen ersetzen kann.

C. Fraenkel (C. 3. 763) und fast gleichzeitig F. Hueppe haben Kölbchen oder größere Reagenzgläser, die das geimpfte Nährmaterial enthielten, mit einem doppelt durchbohrten Gummistopfen recht fest verschlossen, eine lange, bis auf den Boden reichende und eine kurze, unter dem Stopfen endigende sterile Röhre durchgeführt und durch die lange Wasserstoff eingeleitet; nach einigen Minuten wurden die vorher bereits verengten Röhrchen abgeschmolzen. Zur Sicherheit wird der Kautschukpfropf samt den Glasansätzen mit Paraffin (Schmelzpunkt bei etwa 80°) überzogen. Festwerdende Nährböden können zur Rollplatte verarbeitet werden.

E. Roux hat eine Anordnung (AP. 1. 55) getroffen, die später von mir verbessert worden ist sowohl hinsichtlich der Verbindung des Gasentwicklers mit dem Zuleitungsröhrchen, um dieses vor dem Zerbrechen zu schützen, als auch dadurch, daß die für die spätere Abschmelzung erforderliche Verengung des Reagenzglashalses erst nach der Impfung des Nährmaterials gemacht wird. Es sind dazu lediglich gewöhnliche Reagenzgläser und Glasröhrchen nötig, aus denen die Kapil-

*) G. Hauser, Ueber Fäulnisbakterien und deren Beziehungen zur Septikämie. Leipzig bei F. C. W. Vogel. 1885. S. 50.

Digitized by Google

laren leicht in der Flamme ausgezogen werden können. K. Menge und B. Krönig haben den Reagenzgläsern in der Mitte eine kugelförmige Erweiterung geben lassen, damit etwa aufsteigende Flüssigkeit nicht an die verengte, später abzuschmelzende Stelle gelangt.

Nachdem der Nährboden geimpft ist, wird der Hals des Reagenzröhrchens in der Flamme erweicht und außerhalb der Flamme ausgezogen; das Röhrchen wird beim Ausziehen senkrecht gehalten, die Verengung soll etwa 2 bis 3 mm weit sein und nicht zu dünne Glaswandung haben. Dann zieht man das Kapillarröhrchen in ähnlicher Weise aus; wenn man das außerhalb der

Fig. 145.

Flamme macht, wird die Kapillare nicht leicht zu dünn. Man schneidet sie dann einfach mit einer Schere ab. Sie soll so lang sein, daß sie auf den Grund des Röhrchens reicht.

Die Herrichtung des Wasserstoffapparates ist S. 150 beschrieben. Fig. 145 zeigt das übrige. Der Schraubenquetschhahn am Gummischlauch gehört zur Regelung des Gasstroms; er ist unbedingt nötig. Der Gummischlauch, an dem die Kapillare sitzt, ist etwa 20 cm lang.

Zur Einleitung des Gases steckt man die Kapillare ins Röhrchen und bringt dieses in ein Becherglas auf Watte so, daß es etwas schräg liegt. Durch Hebung oder Senkung des U-förmigen Glasrohrs am Stativ stellt man die Kapillare so ein, daß sie etwa 1 mm über dem tiefsten Stand des Nährbodens endigt. Hat man eine Flüssigkeit, so senkt man die Kapillare erst zum Schluß der Durchleitung in die Flüssigkeit, nachdem die Gaszufuhr mittels des Quetschhähnchens so geregelt ist, daß die Bläschen langsam durchstreichen, ohne die Flüssigkeit wesentlich zum Schäumen zu bringen.

Die Abschmelzung geschieht nach etwa 10 Minuten; man muß aber ganz sicher sein, daß kein Knallgasgemisch vorhanden ist! Vor dem Abschmelzen wird erst der enge Hals des Röhrchens über der Flamme angewärmt, damit etwaige

Digitized by Google

Feuchtigkeit ausgetrieben wird, dann hält man das Röhrchen wie in Fig. 145. Regelmäßig entzündet sich dabei das ausströmende Gas; das schadet nichts. Während die dann hochgeschraubte Flamme das Glas am Halse erweicht, zieht man mit der Pinzette vorsichtig aus, bis die Trennung erfolgt ist. Die abgeschmolzene Spitze des Röhrchens wird in der leuchtend gemachten Flamme berußt, damit die Abkühlung nicht zu rasch erfolgt. In der Figur steht hinter den Waschflaschen eine Schale mit Paraffin; mit diesem kann man die Spitze schließlich noch überziehen, das ist aber nicht unbedingt nötig. Zeigt sich ein kleiner Riß am Glase, wo innen die Kapillare anliegt, dann muß man eine neue Kultur anlegen.

Bei der Oeffnung des Röhrchens nach erfolgtem Wachstum wird etwa 1 bis 2 cm unterhalb der verengten Stelle ein nicht zu seichter Ritz mit der Feile oder dem Diamanten gemacht, eine glühende Sprengkohle angelegt und diese so lange angeblasen, bis ein Sprung entsteht, an dessen Ende die Sprengkohle abermals angelegt und angeblasen wird, bis der Riß ringsum läuft. Die abgesprengte

Fig. 146.

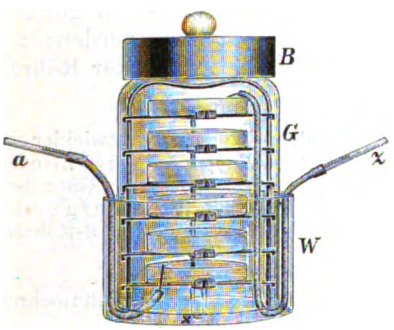
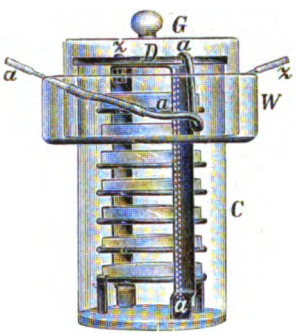


Fig. 147.



Kuppe wird samt der daran hängenden Kapillare in einen Topf zum Auskochen gelegt und das Röhrchen mit einem Wattepfropfen bedeckt. Man achte auf den ausströmenden Geruch der Anaerobierkultur.

Für Plattenkulturen sind alle möglichen Anordnungen ersonnen worden, teils für einzelne Schalen, die mit Zu- und Ableitungsröhren versehen wurden, teils Petrischalen, die in ein besonderes gasdichtes Gefäß zu stehen kamen, teils für mehrere solche zusammen. Die letztere Anordnung ist bei weitem vorzuziehen, da man bei der Trennung von Keimen gewöhnlich mehrere Verdünnungen braucht. Die Schalen werden unter eine Glasglocke gestellt; diese steht in einer Wanne in Paraffinum liquidum. Mit Hilfe eines zu- und ableitenden Rohres wird Wasserstoff durchgeleitet.

Der Apparat von S. Botkin (ZfH. 9. 383) beruht auf diesem Prinzip. Auf dem Boden der tiefen Schale W (Fig. 146) liegt ein bleiernes Kreuz (×), auf dem die mit Bleiklotz B beschwerte Glocke G ruht. Das Kreuz schafft zwischen G und W so viel Raum, daß Schläuche unten durchgeführt werden können. Die beiden Gummischläuche werden mittels durchgesteckter Drähte in der U-förmigen Gestalt gehalten. Der zuführende Schlauch reicht bis nahe ans Dach der Glocke, der abführende nur wenig hoch, damit die schwerere Luft vom Wasserstoff hinausgeschoben werden kann. Nach der Gasdurchleitung werden beide Schläuche herausgezogen, der abführende zuerst. Die unterste der auf dem Gestell befindlichen Petrischalen, die sämtlich ohne Deckel eingestellt werden, ist mit wäßriger Pyrogallussäure-

Digitized by Google

lösung gefüllt, die man nach der Gasdurchleitung durch Umfallenlassen eines Röhrchens mit Kalilauge alkalisch macht.

A. Maaßen hat diesen Apparat in folgender Weise verbessert: An dem Glaszylinder C (Fig. 147) ist oben eine Wanne W angeschmolzen. In ihm befindet sich ein Gestell zur Aufnahme von sieben Kulturschalen. An diesem Gestell sind zwei metallene Röhren a und z angelötet, die ähnlich wie beim Botkinschen Apparat geführt sind. Den Gang der Röhre kann man im Bilde bloß bei a sehen, von z erkennt man nur den Eintritt ins Gefäß; a reicht bis zum Boden (punktiert kenntlich gemacht), z nur wenig tief. Der Zylinder C ist von einer Glastafel D bedeckt, die seitliche Einschnitte besitzt, damit die Röhren a und z durchtreten können (in der Figur ist nur der Durchtritt von a zu sehen). Die Glocke kann wie die Botkinsche beschwert werden. Zum Gebrauch werden a und z mit kurzen Gummischläuchen versehen und daran Glasröhrchen gesetzt, die in der Mitte eine Einziehung haben, wo sie später abgeschmolzen werden; a ist zuerst abzuschmelzen, dann z; danach werden die Enden der Röhrchen unter das in W befindliche Paraffin getaucht.

Die Verbindung derartiger Apparate mit dem Wasserstoffentwickler kann durch eine Verbrennungsröhre nach P. Albrecht geschehen (s. S. 150 f.) oder in ähnlicher Weise, wie in Fig. 145 gezeigt ist, durch Waschflaschen. Ganz besondere Vorsichtsmaßregeln haben A. Schattenfroh und R. Grasberger angegeben; das Gas hat der Reihe nach durch folgende Flaschen und U-Röhren zu gehen:

1. Waschflasche mit 10proz. Lösung von Bleinitrat.
2. „ „ möglichst konzentrierter Lösung von Kaliumchromat in verdünnter Schwefelsäure (1 : 3).
3. „ „ 10proz. Silbernitrat.
4. „ „ möglichst konzentrierter Kaliumpermanganatlösung in stärker verdünnter Schwefelsäure (1 : 20).
5. U-förmige Röhre mit Bimsstein und Bleinitratlösung.
6. „ „ „ „ „ Silbernitratlösung.
7. „ „ „ „ vermischt mit pulverförmiger Pyrogallussäure,

zu der man erst nach völliger Füllung mit dem Wasserstoffgas eine 10proz. Kalilauge durch eine am Ende der Röhre angebrachte Tropfvorrichtung, z. B. eine mit ihrer Kanüle durch den Stopfen geführte Spritze zufließen läßt.

Die Glocke wird auf folgende Weise gedichtet:

Eine wäßrige, neutrale oder schwach saure Pyrogallollösung, die vorher ausgekocht und auf etwa 40° abgekühlt worden ist, wird eingegossen, so daß sie 2 bis 3 cm über dem unteren Rand der Glocke steht.

Dann wird das Wasserstoffgas eingeleitet.

Hierauf wird in den Raum zwischen Schale und Glocke flüssiges Paraffin 3 bis 4 cm hoch über die Pyrogallollösung geschichtet.

Nach ½ Stunde wird eine frische konzentrierte Natronlauge mittels Pipette durch die Paraffinschicht in die Pyrogallollösung gegeben.

Endlich werden die Gummischläuche herausgezogen, bezw. die an ihnen sitzenden Glasröhrchen abgeschmolzen und unter das Paraffin getaucht.

Schließlich sei noch erwähnt, daß S. Botkin das aus der Glocke austretende Wasserstoffgas, ehe es ins Freie gelangt, noch durch eine kleine Waschflasche von etwa 50 ccm Inhalt, die zur Hälfte mit Wasser gefüllt ist, geleitet hat, damit die Prüfung des ausströmenden Gases durch Entzünden jederzeit ohne Explosionsgefahr stattfinden kann; dazu ist das Ausführungsrohr der kleinen Waschflasche zu einer feinen Spitze ausgezogen.

In Laboratorien, wo ein oder mehrere Gasometer vorhanden sind, dürfte es sich vielleicht der Sparsamkeit halber empfehlen, das ausströmende Gas in einen solchen zu leiten; man kann es durch eine glühende Kupferspirale im Verbrennungsrohr beim folgenden Gebrauch von Sauerstoff befreien.

Digitized by Google

Der Tierversuch.

Tiere.

Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen und Ratten, demnächst Tauben und Hühner sind die gebräuchlichsten Versuchstiere im bakteriologischen Laboratorium. Zu ihrer Haltung braucht man besondere Räume, und zwar zweierlei, die einen für die gesunden, die anderen für die geimpften und kranken; es ist streng darauf zu achten, daß die letzteren von den gesunden getrennt und von der Außenwelt überhaupt abgeschlossen sind!

Gesunde Meerschweinchen lassen sich in der wärmeren Jahreszeit in einem umfriedigten Raum im Freien halten; Kaninchen können

Fig. 148.

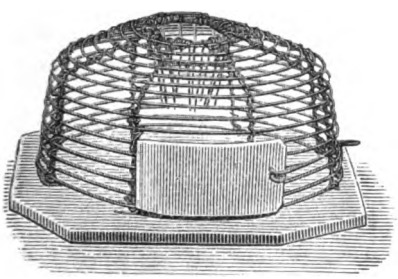
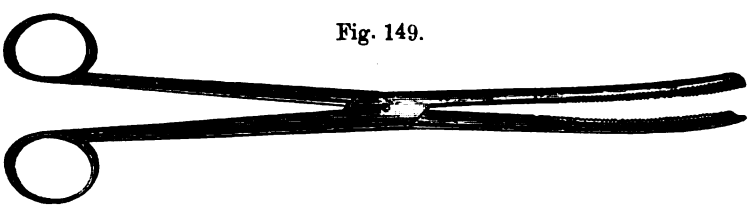


Fig. 150.

Fig. 149.



wegen ihrer Unterminierungen gefährlich werden; diese ziemlich viel Futter brauchenden Tiere kann man, da sie überall leicht zu haben sind, von Fall zu Fall frisch ankaufen. Weniger leicht ist die Beschaffung von Meerschweinchen, die an vielen Orten nicht aufzutreiben sind; ein Angebot erhielt ich von Ernst Schmeißer & Co., zoologische Handlung in Döbeln i. S. und in Dresden-Löbtau.

Von Mäusen sind die grauen für einzelne Versuche leichter zu bekommen als die weißen; mit den weißen ist aber weit bequemer umzugehen, da sie zahm sind. Die wilden werden am besten in einer vor jedesmaligem Gebrauch mit heißem Wasser gebrühten und mit leicht geröstetem Speck versehenen Falle gefangen, die so beschaffen sein muß, daß die Tierchen unverletzt bleiben (s. Fig. 148). Um die gefangene Maus herauszuholen, wird das Schwanzende mit einer Pinzette festgehalten, dann die Türe geöffnet, die Maus mit einer Mäusezange an der Schwanzwurzel gefaßt und in ein Versuchsglas (Fig. 150) übertragen.

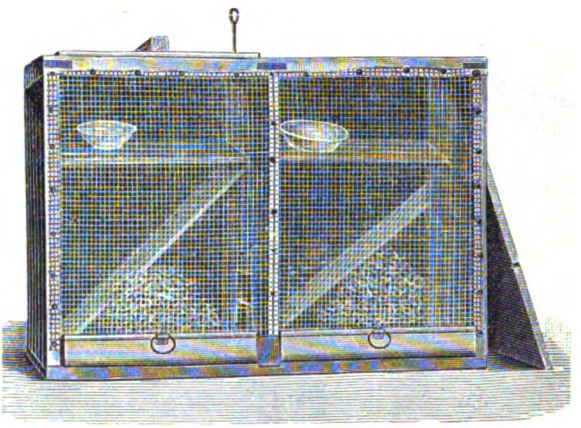
Digitized by Google

Die Mäusezange ist etwa 23 cm lang und besitzt nach der Fläche gekrümmte Arme, die am Ende gerillt und rinnenförmig ausgehöhlt sind (Fig. 149).

Feldmäuse, in manchen Jahren sehr reichlich auftretend, sind womöglich noch unbändiger als die grauen Hausmäuse. Sie müssen besonders kräftig mit der Zange gefaßt werden, sonst gelingt es ihnen, unter Zurücklassung der ganzen Haut des Schwanzes aus der Haft zu entfliehen. Die Feldmaus gehört zur Gattung Arvicola, die Hausmaus zu Mus; beide verhalten sich in ihrer Empfänglichkeit für einzelne Infektionsstoffe nicht immer gleich.

Graue Ratten, mit die wildesten Versuchstiere, werden ebenfalls gefangen; die zahmeren weißen sind bei Händlern zu haben.

Fig. 151.



Die **Züchtung** der Tiere hat in besonderen, geräumigen, gut ventilierten Räumen zu geschehen, die nicht so dicht bei Wohnungen gelegen sein sollen, daß sie durch die Gerüche lästig fallen. Sie seien heizbar, am besten mit Zentralheizung versehen und durch Fenstergitter vor dem Eindringen von Raubtieren (Katzen u. s. w.) geschützt. Vor dem Stall befinde sich, durch Schlupflöcher am Boden mit ihm verbunden, eine Art Volière, in der sich die Tierchen tummeln können. Für die grabenden Kaninchen sei im Boden ein Bassin von der Größe dieses Tagraums gemauert, das mit Sand und Erde gefüllt wird. Ein Vorratsraum für Futter darf nicht vergessen werden; für größere Tiere ist eine Futterküche mit Kochherd erforderlich. Im Innern des Stalles seien Abteilungen für die verschiedenen Tierarten vorgesehen, ferner Zu- und Ableitung von Wasser. Im übrigen verweise ich auf den Abschnitt über Laboratoriumseinrichtung. Hier seien die kleineren Käfige für die Züchtung und Haltung, die zur Stalleinrichtung gehören, besprochen.

Käfige für Mäusezucht zeigt Fig. 151. Der Kasten ist durch eine Zwischenwand, die am Boden eine mit Blechschieber zu verschließende Verbindungsöffnung hat, in zwei Teile zerlegt. Alle Ecken werden mit Blechstreifen beschlagen, weil hier die Tierchen zu nagen

Digitized by Google

pflegen. Das Drahtnetz sei verzinkt. Die ein- und ausschiebbare Blechwanne am Boden wird mit Torfmull, Holzwolle oder dergl. belegt. Der Deckel ist abnehmbar und ruht auf Blechleisten; hier wird das Futter eingegeben und auf das erhöht gelegene, für die Tiere durch ein Laufbrett zugängliche Futterbrett gestellt. Als Futter reicht Weizen und Weißbrot, als Getränk Wasser; wenn Junge vorhanden sind, stelle man auch Milch für diese oder für die säugenden Mütter hinein. Solche Doppelkäfige sollen wenigstens zwei vorhanden sein. Sie brauchen nur 2mal im Jahre gereinigt zu werden; man läßt sie mit warmem Seifenwasser oder Sodalösung gründlich ausscheuern und an der Sonne trocknen. Sind Krankheiten unter den Tieren aufgetreten, dann ist Dampfdesinfektion notwendig. In der übrigen Zeit genügt es, den Unrat herauszunehmen, und zwar abwechselnd bald aus dem einen, bald aus dem anderen Abteil. Für gewöhnlich bleibt die kleine Schiebetür offen; ist die eine Hälfte des Käfigs zu sehr verschmutzt, so wandern die meisten Tiere nach der anderen; dann ist es Zeit, die Scheidewand zu schließen und die Streu durch neue zu ersetzen. Wenn man nun wieder öffnet, ziehen die Tiere allmählich in die neue Wohnung, und man kann einige Zeit später die Reinigung des alten Abteils in Angriff nehmen, ohne die Brut zu stören. Häufige Reinigung ist für die Erzielung eines zahlreichen Mäusebestandes hinderlich; die Jungen werden dann von den Alten verlassen und oft sogar angefressen.

Für Impfungen wähle man möglichst nur Männchen. Sie unterscheiden sich von den Weibchen dadurch, daß der sogenannte Schamhügel, in den die Urethra mündet, wegen Zwischenlagerung der Hoden weiter, etwa 11 mm, vom After entfernt ist, während diese Entfernung beim Weibchen nur etwa 7 mm beträgt. Die Tragzeit ist etwa 16 bis 17 Tage; gewöhnlich werden 4 bis 6 Junge geworfen, mit zunehmendem Alter weniger.

Weiße Ratten beanspruchen größere Käfige; diese seien mit Leitern und Stangen zum Klettern, sowie mit besonderen Niststellen, übereinanderliegenden Fächern mit je drei Abteilen, versehen. Die Holzteile werden mit Beize überzogen und von Zeit zu Zeit reingerieben. Die Futtermenge beträgt für etwa 100 Stück 1 schwarzes und 5 weiße Brote, in Milch geweicht, Körner und ½ kg rohes Fleisch.

Kaninchen und Meerschweinchen bringt man nicht in Käfigen, sondern in besonderen Verschlägen im Stalle selbst unter.

Infizierte Tiere müssen, das sei nochmals betont, unter allen Umständen getrennt von den gesunden an einem Ort aufbewahrt werden, der für Unberufene unzugänglich ist. Es können mehrere mit demselben Infektionsstoff behandelte Tiere in einem Raume zusammen gehalten werden, wenn nicht bestimmte Versuchsbedingungen dagegen sprechen; die Unterscheidung erfolgt dann durch Zeichnung entweder mittels Anilinfarben (bei weißen Mäusen) oder mittels kleiner, keilförmig ausgeschnittener Kerben je nachdem am inneren oder äußeren Rande des rechten oder linken Ohres (bei Kaninchen) oder nach Geschlecht und natürlicher Färbung (Meerschweinchen), wofür es Gummistempel mit den Umrissen des Tierfells gibt, in die die verschiedenen Farben und Flecke im Protokoll eingezeichnet werden (R. Abel, C. 18. 673).

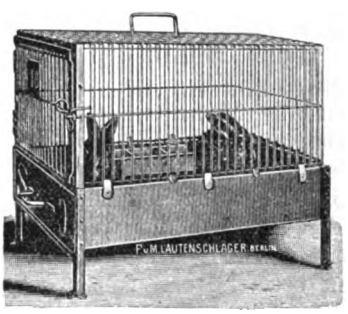
Digitized by Google

Versuchsbehälter gibt es kleinere von 21 × 11 cm für eine bis zwei Mäuse und weitere (Fig. 150) für mehrere oder für etwas größere, wie Ratten oder kleine Meerschweinchen. Die Gläser sind mit Drahtnetz und Bleibeschwerung bedeckt, die man sich im Notfall improvisieren kann, wie in Fig. 167 zu sehen. In beiden Abbildungen fehlt ein Wassergefäß, das man schon bei gesunden, insbesondere aber bei kranken Tieren unbedingt hineinhängen muß; dies geschieht mittels eines in δ-Form gebogenen Drahtes. Der Boden des Versuchsglases sei 2 bis 4 cm hoch mit Sägespänen oder Torfmull bedeckt; das Futter, Weizen, in Milch geweichtes oder trockenes Brot, kann unmittelbar darauf gelegt werden.

Nach Ablauf des Versuches wird die Streu verbrannt und das leere Gefäß mit warmer, schwach angesäuerter Sublimat- oder mit

Fig. 152.

Fig. 153.



Lysol- oder Phenollösung gefüllt 12 bis 24 Stunden stehen gelassen. Hat man gerade keine geeignete Feuerstelle, kann die Streu unter Lysollösung im Glase bleiben. Am andern Tage wird der Inhalt in die Abortgrube geschüttet, das Glas mit einer eigens dafür bestimmten Bürste oder mit warmem Wasser gereinigt und zum Trocknen am besten in die Sonne gestellt. Die Deckel können im Dampfe sterilisiert werden.

Für Pesttiere (Ratten, Mäuse, Meerschweinchen) gibt es besonders gesicherte Käfige, aus denen kein infizierter Staub nach außen gelangen kann. Alle Gitteröffnungen sind mit Watte verschlossen, und der ganze Käfig ist mit Ausnahme der in Gummidichtung liegenden herausnehmbaren Fenstergläser aus Metall gefertigt, damit er im Dampf sterilisiert werden kann. Fig. 152 zeigt einen solchen mit nebenhin gestellter Rattenzange.

Für infizierte Kaninchen und größere Meerschweinchen sind Behälter aus Eisenstäben und Blech die besten, weil sie die Dampfsterilisation vertragen. Für Käfige der Fig. 153 gibt es passende Gestelle aus Eisenrahmen, so daß ganze Reihen übereinander gestellt werden können; dabei sei je eine Entfernung von etwa $^1/_2$ m eingehalten, die zum Schutz vor Krankheitsübertragungen genügt. Der als Schublade herausnehmbare Boden des Käfigs wird mit Torfmull belegt, das den Urin genügend aufsaugt. Ein Futter- und Wassergefäß hängt

Digitized by Google

innen an der Seite. F. Kern hält die Tiere auf einer Blechplatte über dem Torfmull, damit sie nicht stets auf ihrem eigenen Urin und den Fäkalien sitzen, und läßt die Futtertröge an der Innenseite der vorderen Schubladenwand anbringen (C. 38. 127).

Töpfe und Bottiche aus Eisen, Blech oder Steingut, mit beschwerten Drahtgittern und Brettchen bedeckt, werden vielfach noch benutzt; aber die Tiere befinden sich in ihnen unter ganz ungünstigen Verhältnissen, sie haben nicht genügend Platz, Licht und Luft und sitzen oft auf faulender Streu; auch sind derartige größere Gefäße, namentlich die von Steingut, schwer richtig zu reinigen, erfordern viel Desinfektionsflüssigkeit und eine sehr verständnisvolle, aufmerksame Bedienung.

Für den Transport von nicht zu großen Versuchstieren aus dem Stall ins Laboratorium und von da zurück bedarf man eigener Käfige

Fig. 154.

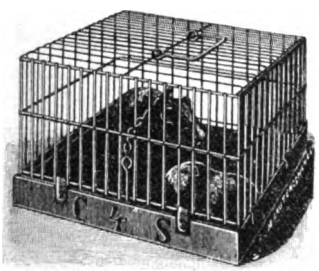
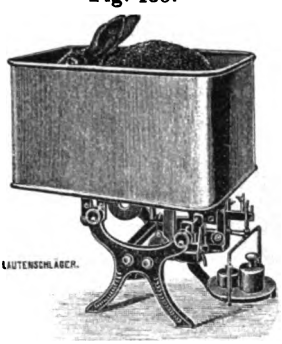


Fig. 155.



aus Holz mit aufklappbarem Doppeldeckel, die das Tier den Augen Unberufener entziehen, oder (wegen der Desinfektionsmöglichkeit) besser aus Metall (Fig. 154).

Zur **Wägung** der Tiere, die zur richtigen Dosierung des Infektionsstoffes und zur Beurteilung des Körperzustandes insbesondere bei Immunisierungsversuchen unbedingt notwendig ist, ist die Wage nach Duenschmann (Fig. 155) notwendig; es ist eine Dezimalwage (s. S. 30); der viereckige Behälter ist durch ein am unteren Arme angehängtes Gegengewicht (fehlt in der Figur) austariert. Mäuse können auf einer gewöhnlichen Wage in einem tarierten Glase gewogen werden oder auf einer Briefwage, deren Teller mit einem Halter versehen ist.

Die Infektion.

Bei der Impfung müssen die Tiere möglichst sicher gehalten werden. Kaninchen bleiben bei kleineren Eingriffen zwar ruhig sitzen, wenn man ihnen lediglich ein dunkles Tuch über den Kopf gebreitet hat, indessen wäre das bei Hantierungen mit Infektionsstoffen doch zu unsicher und gefährlich. Fixierungen mit Bändern, wie sie z. B. E. Klebs (DmW. 92. 1001) bei Meerschweinchen anwendete, denen er Einspritzungen mit Cholerakulturen in den Dünndarm machte, sind

Digitized by Google

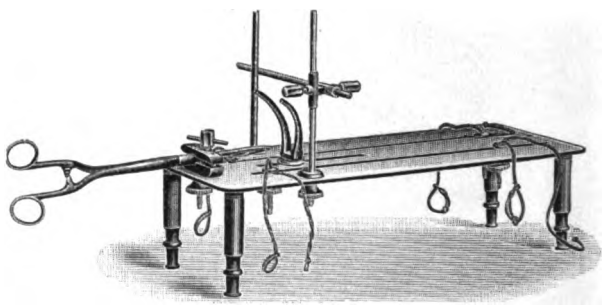
umständlich und für Arbeiten mit gefährlichem Material bedenklich. Als ganz verwerflich und den Regeln des Laboratoriums schnurstracks zuwiderlaufend muß ich es aber erachten, wenn man die Tiere einem Gehilfen in die Hände gibt; die Gehilfen pflegen Mäuse, weiße Ratten und ähnliche kleine Tiere mit den Händen im Nacken und am Schwanz zu fassen und auf dem Unterleib, größere im Sitzen auf dem Schoße zu halten. Wie leicht ist es möglich, daß, wo sich vier Hände entgegen arbeiten, einmal ein Tropfen Flüssigkeit auf die Kleider oder die Hände des Haltenden kommt, wenn nicht noch etwas Schlimmeres passiert!

Halter. Mäusehalter (Fig. 156), in der von S. Kitasato angegebenen Form, sind, wenn sie stets sauber gehalten werden, jahrelang brauchbar

Für Ratten und Meerschweinchen ist ein Halter der Fig. 157

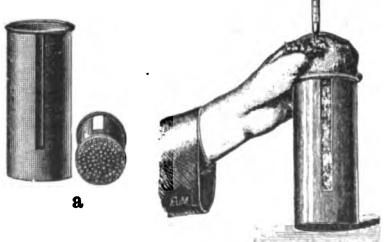
Fig. 156.

Fig. 157.



anderen vorzuziehen; eine am Kopfteil befestigte Zange faßt das Tier an einer Nackenfalte; der Hals liegt in einer Gabel und wird durch ein verschiebbares Querstäbchen fixiert; ist dies geschehen, lassen sich die Beine mit Schlingen, die durch Schrauben festgeklemmt werden, mühelos festbinden.

Fig. 158.



a b

Für die Meerschweinchen ist ein sehr einfacher Halter die Hülse nach O. Voges (C. 18. 530), Fig. 158a zeigt sie leer, b im Gebrauch bei einer Temperaturmessung.

Für Kaninchen oder Meerschweinchen gehört das wannenartige Blech der Fig. 159 nach Malassez. Der eiserne Haken wird vom Gestell genommen und um den Nacken gelegt, dann der Ring über die Schnauze geschoben und mit der Schraube am Handgriff festgestellt. Ein derartig am Kopf gefaßtes Tier ist schon ziemlich wehrlos. Nun legt man es entweder auf den Bauch oder Rücken, befestigt den Kopfhalter an der senkrecht stehenden Stange, steckt die Beine durch die Schlingen, zieht diese zu, die

Digitized by Google

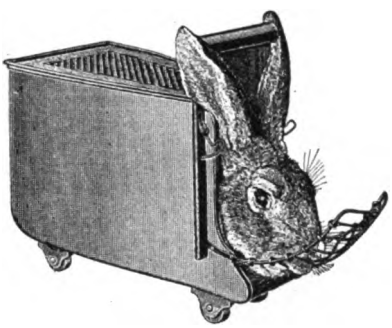
Enden der Schnüre durch je eine der zunächst gelegenen Löcher der Seitenwände und knüpft sie fest. Für Fälle, wo man nur am Kopf

Fig. 159.

und im besondern an den Ohren einen Eingriff, etwa eine Blutentnahme machen will, eignet sich die Vorrichtung der Fig. 160.

Für Hunde dient eine Operationsrinne aus Holz (Fig. 161), die mit dem Cowlschen Kopfhalter ausgestattet ist. Es ist dies der einzige der hier aufgeführten Halter, der nicht ganz aus Metall gefertigt ist. Indessen werden Hunde für Infektionsversuche sehr selten gebraucht, und gegebenen Falls kann das kräftige Holz im Dampf sterilisiert werden.

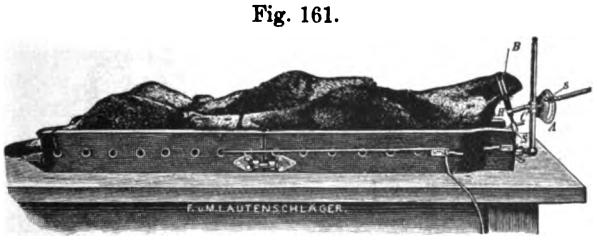
Fig. 160.



Um die Halter mit den Tieren in verschiedene für den Operateur günstigere Lagen bringen zu können, eignet sich nach E. Czaplewski Atzerts Universalklapptisch. Er ist nebst zwei zur Befestigung der Halter nötigen Klammern von C. Antoni in Köln, Friesenplatz 9, um 32 Mk. zu beziehen (C. 32. 398).

Spritzen dürfen bloß Glas- oder Metallteile oder beide haben, aber keine Schraubengewinde und keine Verklebungen, damit sie jeder-

Fig. 161.



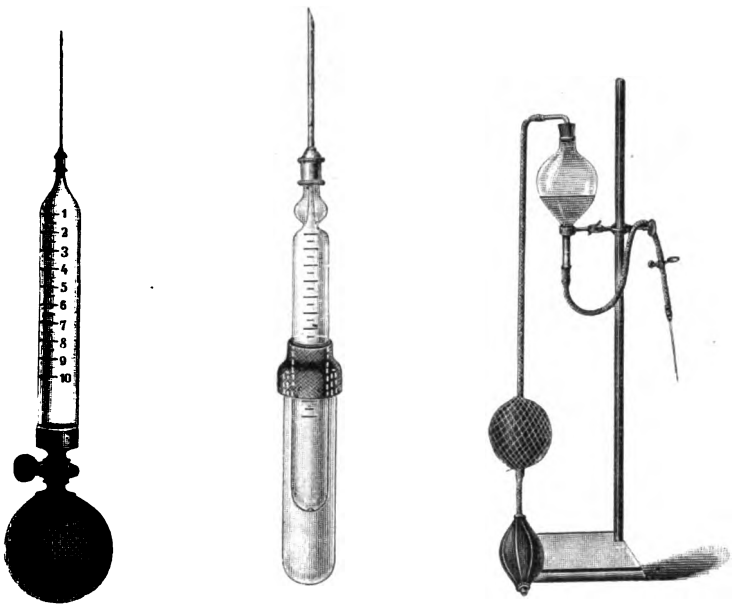
zeit ohne Schaden ausgekocht werden können. Diese Forderungen sind bei der Ballonspritze nach R. Koch (Fig. 162) erfüllt; der Gummiball hat ein Loch, das zum Saugen und Drücken mit dem Finger verschlossen wird; ist das Rohr genügend weit mit Flüssigkeit gefüllt, dann wird der zwischen Ball und Röhre befindliche Hahn durch Umdrehung geschlossen, damit nichts auslaufen kann. Bis zum Gebrauch wird sie auf den auch für andere Spritzen geeigneten Spritzenhalter nach W. Dönitz (Fig. 166) gelegt.

Statt des Ballons hat E. Stroschein eine weitere übergeschobene

Digitized by Google

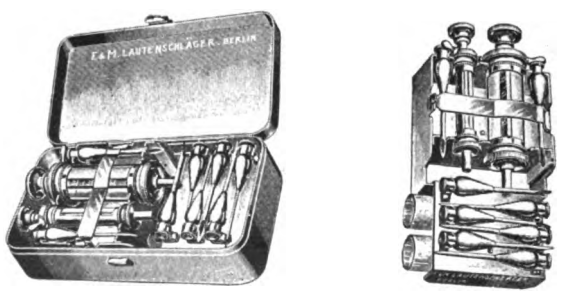
Glasröhre genommen, die mit Gummischlauch gegen das innere Rohr gedichtet ist (Fig. 163); vor der Ansaugung wird das weitere Rohr nur etwa bis zum mittleren Teilstrich übergeschoben, dann seine Oeff-

Fig. 162. Fig. 163. Fig. 164.



nung am Ende mit dem Finger verschlossen und durch Anziehen angesogen. Zur Einführung größerer Flüssigkeitsmengen in den Tierkörper kann ein mit Flüssigkeit gefüllter Kolben in der Art wie

Fig. 165.



a b

Fig. 164 zeigt, mit einer Kanüle einerseits und einem Ballongebläse anderseits verbunden werden.

Um das Fell größerer Tiere leichter durchstechen zu können, sind die Kanülen an der in Fig. 165a und b wiedergegebenen Spritze nach G. Sobernheim mit Bleibeschwerung versehen, wodurch man beim

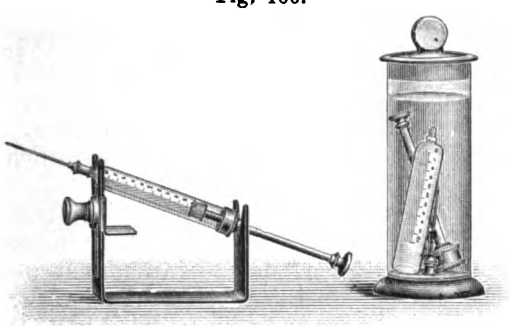
Digitized by Google

Einstich eine größere Wucht zu erzielen vermag. Sie werden bei der Behandlung der Rinder mit Milzbrandschutzserum verwendet.

Stempelspritzen sind für unsere Zwecke nur brauchbar, wenn der Stempel in feuchter oder trockener Hitze sterilisierbar ist. Dazu ist von Schüller Asbest angegeben und von Gg. Meyer für gewisse metallangreifende medikamentöse Injektionen in Verbindung mit Hartgummi verwendet worden (BkW. 90. 1214). Für bakteriologische Zwecke macht man den Stempel aus Metall und versieht ihn am Ende mit zwei Plättchen, zwischen denen der als Kolben fungierende Asbestring durch Verschraubung nach Belieben zusammengepreßt, somit verbreitert oder gelockert werden kann.

Zum Gebrauch wäscht man den Asbeststempel und die Spritze nebst der auf ihren Fortsatz passenden Kanüle in ausgekochtem Wasser

Fig. 166.



mehrmals aus und versucht, ob alles gut funktioniert. Nach der Füllung mit der infektiösen Flüssigkeit kann die Spritze auf den Halter von Dönitz (Fig. 166) schräg gelegt werden. Nach Gebrauch wird sie in etwa 1proz. Sodalösung ausgekocht; man läßt diese erst warm werden, nimmt dann die Kanüle mit einer Pinzette ab, legt sie hinein, danach die zerlegte Spritze, wobei man darauf achte, daß die Resttropfen beim Herausziehen des Stempels unmittelbar in die Sodalösung fallen und nichts davon an die Finger oder sonstwohin kommt. Vom Kochen an gerechnet wartet man mit der Uhr in der Hand 1 Minute (wenn nicht Sporenmaterial darin war, das Dampfdesinfektion verlangt) und überträgt alsbald die drei Spritzenteile in ein Gläschen mit Alkohol (Fig. 166), worin sie bis zum nächsten Gebrauch aufbewahrt werden.

Eine sehr exakt gearbeitete Spritze mit einem Vollstempel aus Glas ist die nach Luer (DRP. 88352). Eine ähnliche Spritze ist DRGM. 208088. Der Stempel füllt die Röhre, ohne daß er gefettet zu werden braucht, luftdicht aus. Die Spritze ist nicht billig, und wenn nur einer der beiden Teile zerbricht, im ganzen wertlos. Die Präzisionsspritze „Rekord" besitzt deshalb einen Metallstempel und eine Fassung der Glasröhre in Metall, die so angebracht ist, daß das Ganze ausgekocht werden kann (DRGM. 139667). Ob sich die bei „Rekord" vorhandene Verbindung von Glas und Metall in der Hitze bewährt, habe ich noch nicht ausprobiert.

Digitized by Google

Die **Narkose** ist bei den bakteriologischen Impfungen, die meist nur mit einem geringfügigen Einstich oder Einschnitt verbunden sind, nicht nötig. Wendet man sie an, z. B. bei Blutentnahmen u. s. w., so ist besonders darauf zu achten, daß Chloroform nicht an Schleimhäute kommt; man sorge also, daß nur die Dämpfe eingeatmet werden. Ein Wattebausch wird in einem Becherglas mit Chloroform getränkt, darauf ein trockener Bausch gegeben, der etwa abfließende Tropfen aufsaugen soll, und das Glas dem Tiere über die Nase gehalten. Den empfindlichen Kaninchen wird zur Erzielung eines guten Verlaufs der Narkose etwa 10 Minuten vorher eine Morphiumeinspritzung von 0,05 g unter die Haut gegeben.

Sehr gute Dienste leistet die Narkose bei der Impfung unbändiger Tiere, z. B. von Katzen, grauen Ratten, grauen Mäusen. Erstere brauchen natürlich etwas mehr Chloroform, zumal da man den getränkten Wattebausch entfernt vom Kopf in den Käfig legen muß. Ratten und Mäuse sind dagegen aufs leichteste in Schlaf zu bringen, wenn man etwa ½ ccm Chloroform durch den Gitterdeckel auf die Streu mit der Vorsicht fließen läßt, daß kein Tröpfchen aufs Fell oder gar ins Gesicht gelangt. Nach wenigen Augenblicken kann man sie wie leblos aufspannen, und bis sie wieder aufwachen, ist die kleine Impfung längst vorüber. Man wird sie danach natürlich in ein frisches von Chloroformdämpfen freies Glas setzen.

Die Narkose scheint nicht immer ohne Einfluß auf den Verlauf der Infektion zu sein; wenigstens wollen E. Klein und C. F. Coxwell bei Fröschen und Ratten, die auf Milzbrand wenig oder nicht reagieren, den Eintritt der Infektion beobachtet haben, wenn sie die Impfung während der Narkose vornahmen (C. 11. 464).

Die verschiedenen Arten der Impfung.

Perkutane Infektion wird durch schonende Einreibung des Impfmaterials mit einem in der Pinzette gehaltenen Wattebausch oder mit einem Glasstab in die rasierte Haut gewöhnlich des Bauches vorgenommen. Beim Rasieren ist jede Verletzung sorglich zu meiden. Die Methode hat sich bei der Untersuchung unreinen Materials auf Pestbazillen bewährt und ist von Weichselbaum, Albrecht und Ghon dazu eingeführt worden (s. auch E. Fritsche, KGA. Arb. 18. 453). Auch am Kaninchenohr sind derartige Einreibungen namentlich von Streptokokken mehrfach vorgenommen worden, und die Einbringung von Diphtheriebazillen in die leicht auseinandergezogene Scheide von Meerschweinchen durch F. Loeffler kann ebenfalls hieher gerechnet werden.

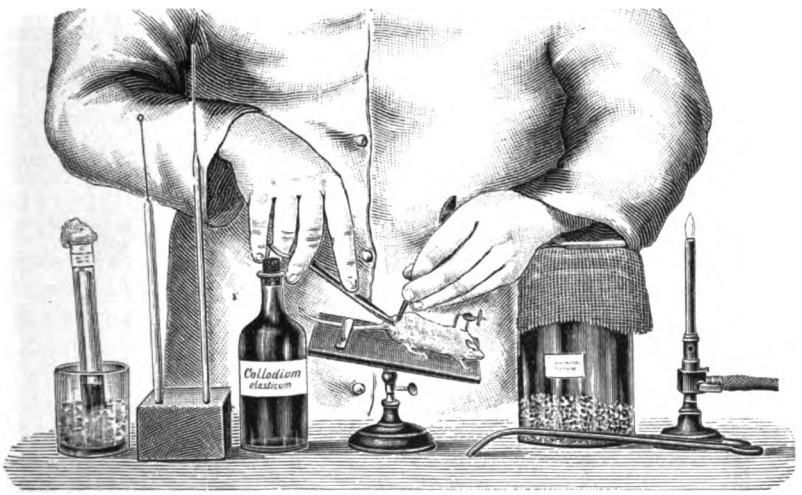
Subkutane Infektion. Die Haare werden entweder nur beiseite geschoben oder abgeschnitten. In jedem Falle ist bei langhaarigen Tieren und bei Vögeln die vorgängige Befeuchtung mit Spiritus ein wirksamer Behelf. Eine Desinfektion der Haut ist, wenn nicht besondere Versuchsbedingungen sie erheischen, unnötig. Muß man sie anwenden, dann hüte man sich namentlich bei kleineren Tieren das Fell in einem zu großen Umkreis zu benässen, denn Mäuse und junge Kaninchen können nach ausgiebiger Benetzung durch Erkältung sterben.

Digitized by Google

Mit einer Pinzette wird eine Hautfalte erhoben, ein kleiner Scherenschnitt angelegt und das Impfmaterial, sei es ein Organstückchen, ein Schleimteilchen oder etwas von an einer Platinnadel oder -öse haftenden Kultur, eingeschoben. Die Vornahme einer subkutanen Impfung bei der Maus und die Vorrichtungen dazu zeigt Fig. 167.

Bei der Maus ist die Schwanzwurzel die passendste Stelle, bei Kaninchen und Meerschweinchen der Bauch oder der Rücken, bei Katzen die Rückenseite des Halses, kurz es sind Stellen zu wählen, an denen die Tiere möglichst nicht lecken oder scheuern können. Vögel werden an der Brust neben dem Kiel geimpft, das Impfmaterial kann dann über den Kiel nach der anderen Seite geschoben werden. Ist die

Fig. 167.



gesetzte Wunde nur klein, so braucht man sie nicht zu vernähen oder überhaupt mit irgend etwas zu bedecken. Soll ein eingebrachtes Teilchen in seiner Lage gesichert werden, dann kann man etwas Watte auflegen, einen oder einige Tropfen Collodium elasticum aufträufeln und mit einer Pinzette glattstreichen. Kollodium macht dem Tiere für einen Augenblick Schmerz.

In die vordere Augenkammer wird Impfmaterial mit einer Irispinzette auf folgende Weise eingebracht: Am kokainisierten Augapfel wird eine Falte der Bindehaut mit einer Fixierpinzette gefaßt, der Bulbus nach unten gedreht und ein Lanzenmesser dicht am oberen Rand der Hornhaut eingestochen. Sobald die Spitze in der vorderen Augenkammer angelangt ist, muß sie nach der Mitte der Pupille, aber stets parallel mit der Regenbogenhaut weitergeführt werden. Beim folgenden Zurückziehen des Messers ist sein Stiel zur Vermeidung von Irisverletzung so zu senken, daß die Spitze gegen die Hornhaut gerichtet ist. Dann geht man in dieser Stellung langsam aus der Kammer heraus; erst wenn die Spitze nahe der Hornhautwunde angekommen ist, muß das Messer in die Stellung, die es im Beginn der Operation einnahm, zurückgebracht werden. Durch die ange-

Digitized by Google

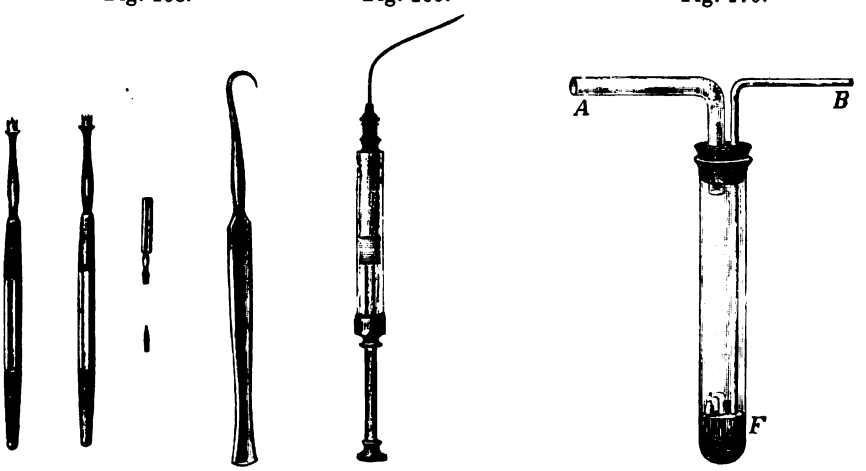
legte Wunde wird das Impfmaterial mittels Spritze oder Irispinzette eingeführt.

Behufs Einspritzung ohne Schnitt sticht man erst die Kanüle ein und läßt so viel Kammerwasser abfließen, als freiwillig herausgeht. Dann erst setzt man die Spritze auf die Hohlnadel und spritzt ein. Jede Kammer faßt nach L. Manfredi und P. Viola beim Kaninchen etwa 0,2 bis 0,3 ccm, beim Meerschweinchen etwa 0,1 bis 0,2 ccm (ZfH. 30. 66).

Unter die Hirnhaut wird gewöhnlich bei Kaninchen zur Fortführung des Virus fixe und zur Prüfung auf Straßenwut eingespritzt, nachdem zuvor trepaniert ist.

Zur Trepanation wird das Tier auf dem Operationsblech gut befestigt und seine Kopfhaut mit Alkohol abgerieben. Ein von der

Fig. 168. Fig. 169. Fig. 170.



Mittellinie etwa 2 mm entfernter Schnitt von etwa 1½ cm Länge durchtrennt die Weichteile. Hierauf wird die Knochenhaut sorgsam zur Seite geschoben und auf dem also entblößten Knochen in einer Linie, die man sich von dem einen zum anderen Augenwinkel gezogen denkt, der Trepan angesetzt. Man nimmt zuerst einen solchen mit Führungsstift (Dorn), der mit einem Uhrschlüssel eingesetzt werden kann, bohrt mit ihm etwas vor und bahnt so dem weiterbohrenden dornlosen Trepan (Fig. 168) den Weg. Haftet nach der feinfühlig vorzunehmenden Einbohrung das runde Knochenstückchen nicht im Instrument, wird es mit einem scharfen Häkchen herausgeholt. Nunmehr liegt die Dura frei und es gelingt leicht, mit einer Kanüle, der die in Fig. 169 dargestellte Krümmung durch Biegen im glühenden Zustande gegeben werden kann, unter die Hirnhaut einzustechen; man schiebt sie etwa 1 cm nach vorne und spritzt höchstens einen Tropfen ein; oder man spaltet die Dura etwas und impft nur mit einem infizierten Platindraht. Dann wird die Wunde vernäht und mit Kollodium und Watte bedeckt. Wird zu viel Flüssigkeit unter die Hirnhaut gegeben, so äußert sich das gewöhnlich in Kaubewegungen des Tieres; solche Tiere erliegen dann oft

Digitized by Google

der Operation an und für sich und das kann auch erst in einigen Tagen der Fall sein.

In vielen Fällen genügt es, in den subduralen Raum des Rückenmarks zu impfen, indem man die Spritzenkanüle zwischen zwei Fortsätzen der unteren Wirbelsäule einsticht (O. Heubner, DmW. 96. 423).

In die Lunge wird der Infektionsstoff am besten durch Einatmung befördert. H. Buchner hat sowohl staubförmige Stoffe, wie zerriebenes tuberkelbazillenhaltiges Sputum, mit Bakterien oder Sporen getränkten Kohlen- oder den noch viel feineren Lykoperdonstaub durch ein Gebläse aufgewirbelt oder Bakterienaufschwemmungen zerstäubt. Die Ausmündung A des dazu benutzten Verstäubers (Fig. 170) wurde in den durch Watteverstopfung bakteriendicht gemachten Versuchsraum geleitet, bei B ein Gebläse angesetzt und dadurch die bakterienhaltige Flüssigkeit F versprüht (C. 6. 274).

Bei größeren Tieren kann lediglich der Kopf in den Atmungsraum eingeführt werden; es wird den Tieren eine Maske übergestülpt, die mit dem Inhalationsapparat in Verbindung steht. So haben H. Kossel, A. Weber und Heuß zusammen mit der Firma F. & M. Lautenschläger einen Apparat zu Versuchen über Tuberkelbazilleneinatmung an Kälbern konstruiert, der KGA. Tub.-Arb. 3. 32 beschrieben ist. Welche Vorsichtsmaßregeln bei solch gefährlichen Versuchen getroffen sein müssen, damit der Versuchsansteller nicht gefährdet ist, hat E. Martini ZfH. 38. 333 beschrieben und abgebildet. Ihm diente als Zerstäuber und zwar von Pestbazillen der „Paroleine" von Burroughs Wellcome & Co.

Ist ein solcher Versuch regelrecht durchgeführt, dann trägt das Tier auf dem ganzen Fell die Keime. Da es nicht desinfiziert werden kann, muß es bis nach seinem Tode in einem besonderen keimdicht abgeschlossenen und sicher desinfizierbaren Käfig gehalten, es darf bloß mit Zangen angefaßt und vor der Sektion muß das Fell mit verdünntem Alkohol zum Schutz gegen Verstäubung befeuchtet werden; danach ist es zu verbrennen und das Sektionsbrett zu desinfizieren.

Man hat die Methode als nicht einwandfrei erklärt, weil die Mund- und Nasenhöhle, vor allem die Mandeln, zu große Auffangflächen darbieten. Versuche, wie die Bakterien von den Alveolen aus in den Körper eindringen, werden von diesem Einwand weniger betroffen als solche, bei denen es auf den Nachweis ankommt, daß eine Infektion direkt von der Lunge aus unter Ausschluß anderer Eingangspforten wirksam werden kann.

Für derartige Fälle tritt die Baumgartensche Versuchsanordnung der Einspritzung in die Luftröhre in ihr Recht. Selbstverständlich muß dabei jede Möglichkeit einer Infektion durch die Luftröhrenwunde oder den Stichkanal ausgeschlossen sein. Ueber die Technik der Einspritzung sei auf A. Gramatschikoff, Arb. a. d. path.-anatom. Inst. zu Tübingen 1. 456 verwiesen.

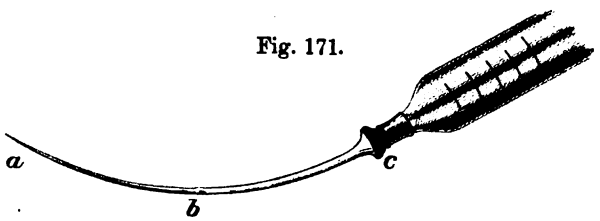
In die Brusthöhle. Bei den Einspritzungen können größere Gefäße oder die Lungen verletzt werden, so daß plötzlicher Tod oder wenigstens störende Blutungen die Folge sind. Doch ertragen, wenn

Digitized by Google

sonst keine Verletzungen gemacht worden sind, selbst die kleinen Mäuse den Eingriff.

In die Bauchhöhle impfen wir sehr häufig. Das Tier wird dabei so gelegt, daß der Kopf tiefer als das Hinterteil liegt, und die Bauchwand zur Falte erhoben. Verletzungen der Leber umgeht man dadurch, daß man nur die linke Seite zum Einstich wählt, solche des Darms sind weniger leicht zu vermeiden. Dazu sind verschiedene Methoden, auch andere Formen der Spritzenkanüle angegeben worden. W. F. Stevenson und D. Bruce haben eine gekrümmte Nadel (Fig. 171) genommen, deren spitzes Vorderteil a-b nicht hohl ist; der Operateur hebt eine Bauchfalte samt Peritoneum bei möglichst schlaffer Bauchwand und sticht die Nadel durch die beiden Wülste, so daß sich die Oeffnung b im Mittelpunkte der Falte befindet; bei geringem Nach-

Fig. 171.



lassen breitet sich die Bauchwand wieder aus, die Einspritzung wird gemacht, die Bauchwandfalte wiederhergestellt und die Nadel herausgezogen (C. 9. 690). Man kann auch eine gewöhnliche gerade Kanüle nehmen, muß sie aber dann, nachdem sie auf der anderen Seite zu Tage gekommen ist, wieder so weit zurückziehen, bis sie frei in die Bauchhöhle mündet (G. Sobernheim, ZfH. 20. 464). R. Pfeiffer spaltete erst das widerstandsfähige Koriumgewebe und bohrte dann eine abgestumpfte Kanüle durch die Muskulatur in die Bauchhöhle (ZfH. 19. 91). E. Friedberger ließ Spritzen „aus einem Stück" herstellen, deren vorderes Ende keinen Kanülenansatz hat, sondern etwa 2 cm lang dünn ausgezogen ist; die Ausflußöffnung ist abgeschrägt, aber stumpf geschliffen und kann nach Durchtrennung der Bauchhaut mit der Schere leicht durch die Muskeln eingeschoben werden, ohne daß danach eine Darmverletzung zu befürchten ist (C. 39. 718).

Die Einspritzung **in die Blutbahn** wird am öftesten beim Kaninchen gemacht und hier meist in die Ohrvenen, die durch einen in der Gegend der Ohrwurzel ausgeübten Druck zum Schwellen gebracht werden können; das wird bis zu einem gewissen Grade sogar schon durch das vorbereitende Reinigungsverfahren erreicht. Zur Sicherheit kann man die Haut über der Vene eine Strecke weit einschneiden, damit das Gefäß deutlich zu Tage liegt. Selbstverständlich muß nach dem Herzen zu eingespritzt werden.

Bei Meerschweinchen wird eine größere Vene, etwa die linke V. jugularis, gewählt und nachher doppelt unterbunden.

Bei derartigen Einspritzungen ist besonders darauf zu achten, daß die Aufschwemmung von Bakterien sehr gut und gleichmäßig gemacht

Digitized by Google

worden ist, damit nicht gröbere Teilchen in die Blutbahn eingeführt werden.

In den Magen und Darm. Die Infektion auf natürlichem Wege geschieht durch Vermengung des bakterienhaltigen Materials mit dem Futter. Zur Vermeidung des Einwandes, daß sie bereits von der Mund- und Rachenhöhle aus stattgefunden, haben R. Koch, G. Gaffky und F. Loeffler von Kartoffelwürfeln ein Stück abgetragen, eine Aushöhlung zur Aufnahme des Infektionsstoffes gemacht und das Stück als Deckel wieder darüber gelegt. Diese Würfel wurden dem Tier auf den hinteren Abschnitt der Zunge gebracht, so daß sie ungekaut verschluckt werden mußten (KGA. Mittlg. 2. 166).

Sonst tränkt man gewöhnlich Futterstücke mit Bouillonkultur, z. B. im großen zur Bekämpfung der Mäuseplage mit dem Bac. typhi murium nach F. Loeffler. Trockenfütterung eignet sich mehr für widerstandsfähige Keime und für Gifte; so hat P. Ehrlich Rizin und Abrin zusammen mit fein verriebenen Kakes zu einem steifen Teig verrührt und in Form kleiner Würfel getrocknet (DmW. 91. 976).

Fig. 172.

Zur Infizierung mittels Magensonde wird ein elastischer Katheter durch einen Gummi- oder Holzkeil geführt und dieser zwischen die Zahnreihen des Tieres gesteckt, wie z. B. in Fig. 172. Kleineren Tieren können die Kiefer auch mit einer Cornetschen Pinzette auseinandergehalten werden.

Um die Wirkung des sauern Magensaftes zu vermeiden oder auszuschalten, wird die Einführung entweder in den nüchternen Magen gemacht oder der Magensaft, wie R. Koch bei Choleraversuchen am Meerschweinchen tat, mit mehreren Kubikzentimetern einer 5proz. Sodalösung neutralisiert. Dies muß bei Kaninchen immer geschehen, da ihr Magen niemals leer ist. Magnesia usta reizt die Magenschleimhaut weniger als Natriumkarbonat.

Zur Einspritzung in den Darm hebt man die Bauchwand zu einer Falte, führt zwei sterile Seidenfäden hindurch und legt einen etwa 5 mm langen Schnitt an, in dem dann ohne weiteres eine Dünndarmschlinge erscheint (E. Klebs, DmW. 92. 1001).

Die Katheterisierung der **Harnblase** geschieht entweder mit einem biegsamen Katheter oder mit einem Glasröhrchen, das zu einer langen, etwa 2 bis 3 mm dicken, vorne rund abgeschmolzenen Spitze ausgezogen und einige Zentimeter vor dem Ende in stumpfem Winkel gebogen ist; die Seite der Konkavität wird am dicken Ende durch eine Marke bezeichnet. Durch eine mittels Gummischlauches angesetzte Spritze gelingt dann die Einspritzung leicht.

Untersuchung und Obduktion.

Nach der Impfung müssen die Tiere hinsichtlich ihrer Munterkeit, Freßlust, ihres Aussehens und ihrer Lage und Stellung, die sie

Digitized by Google

einnehmen, öfters beobachtet werden; es ist auf Veränderungen in der Sekretion zu sehen, ob die Augenlider verklebt sind, ob abnorme Ausflüsse aus der Nase, dem After, der Harnröhre u. s. w. bestehen, ob das Fell sich sträubt, Lähmungen vorübergehend oder dauernd auftreten u. dergl. m.

Regelmäßige Temperaturmessungen sind in vielen Fällen notwendig; die dazu nötigen Thermometer (s. S. 26) müssen so eingerichtet sein, daß man Temperaturen von 44 bis hinab zu 28 ° ablesen kann. Für Mäuse gibt es entsprechend dünne. Meerschweinchen und besonders Kaninchen haben auch unter normalen Verhältnissen eine zwischen weiten Grenzen sich bewegende Eigenwärme (36 bis 39 °); es ist deshalb zu empfehlen, schon mehrere Tage vor der Impfung mit den Messungen zu beginnen. Temperatursteigerungen lassen namentlich bei Kaninchen oft nicht auf die Schwere der Infektion schließen, eher kann man einen erheblichen Temperaturabfall als Merkmal für den schlimmen Ausgang oder die Schwere der Krankheit bei gewissen Infektionen nehmen.

Die Gewichtskurve des geimpften Tieres kann dagegen ein deutliches Bild von dem Grade der Erkrankung und dem Zustand des Allgemeinbefindens geben. Um Fehlerquellen durch Nahrungsaufnahme u. s. w. möglichst zu vermeiden, sollen die Wägungen immer möglichst zu der gleichen Tageszeit gemacht werden (C. Schimmelbusch und R. Mühsam, A. f. Chir. 52. 570).

Fig. 173.

Die gemachten Wahrnehmungen sind protokollarisch niederzulegen. Man notiere die Lage, in der ein von anderen abgesondertes Tier nach dem Tode gefunden wird, da das mit zu den Erscheinungen bei der Krankheit einen Beitrag liefern kann. So z. B. unterscheiden sich die an Mäuseseptikämie oder Schweinerotlauf gestorbenen von den an Milzbrand eingegangenen Mäusen dadurch, daß diese auf der Seite liegen, während jene die hockende Stellung auch im Tode beizubehalten pflegen.

Blutentnahmen zur Prüfung auf stattgefundene Allgemeininfektion, also zur Prüfung auf kreisende Keime oder zur Ermittlung erlangter Immunwerte werden bei Kaninchen gewöhnlich am Ohr gemacht (bei den kleinen Mäusen schneidet man ein Stückchen des Schwanzes ab). Will man dazu vorübergehende Stauung haben, so legt man in die Ohrmuschel einen passenden Keil aus weichem Holz (Lindenholz), dessen kürzere Seite etwa 15 mm lang ist, und der einen solchen Durchmesser hat, daß nach dem Herumlegen des Ohres noch ein Stück Holz freibleibt. Hier wird mit zwei Reißnägeln ein elastisches Band von etwa 10 cm Länge und 1 cm Breite, das ums Ohr gelegt ist, festgemacht (D. B. Boks, C. 26. 565).

Die Entblutung speziell der Kaninchen wird gewöhnlich durch die freigelegte Carotis vorgenommen. Zur sicheren keimfreien Gewinnung eignet sich ein Rohr von etwa 250 mm Länge und etwa 16 mm lichter Weite, das unten zu einer im stumpfen Winkel gebogenen, mehrere Zentimeter langen, zunächst zugeschmolzenen Kapillare ausgezogen ist. Es wird mit einem Wattestopfen versehen sterilisiert. Ist die Carotis freigelegt, klemmt man sie mit einer kleinen Arterienklemme

Digitized by Google

(Fig. 173) zu, führt zentral einen Seidenfaden unter dem Gefäß durch und sticht herzwärts das kapillare Ende des Rohrs, dessen Spitzchen kurz zuvor abgebrochen worden ist, so vorsichtig ein, daß man nicht auf der anderen Seite wieder herauskommt. Jetzt muß ein Gehilfe den vorhin durchgezogenen Seidenfaden um die Arterie legen und sie auf der Glaskapillare festbinden. Unterdessen ist, wenn alles gelungen, das Blut bereits in die Glasröhre eingeflossen; durch vorsichtiges Saugen über dem Wattestopfen kann man eine etwa eintretende Verstopfung aufheben. Ist die Röhre voll, dann ist ein nicht zu großes Tier bereits entblutet; denn es liefert etwa 60 ccm Blut. Braucht man nicht so viel, wird man eher das Glasrohr herausziehen, während die Arterie zuvor hier und dann anstatt mit der Klemme peripher mit einer Ligatur versehen wird; das Tier kann nach Zunähung der Wunde am Leben bleiben.

Die **Tötung** der Tiere kann außer durch Entblutung am einfachsten mittels Nackenschlag geschehen oder durch Chloroformierung; es können danach Blutaustritte, purpuraähnliche Erscheinungen in der Leiche gefunden werden (M. Kolb, KGA. Arb. 7. 74), was man für die Beurteilung des Sektionsbefundes wissen muß. Sie treten bei Entblutung nicht auf.

Leichenöffnung. Für die Gewinnung von Reinkulturen aus den Organen ist es erwünscht zu wissen, von welcher Zeit ab neben den vorhandenen Krankheitserregern Fäulnisbakterien zu erwarten sind. Denn die normalen inneren Organe sind keimfrei und bleiben es eine Zeitlang nach dem Tode, bis das Eindringen der Fäulniskeime von außen, zunächst meist vom Darm aus beginnt. S. Trombetta fand (C. 10. 664):

	bei Zimmertemperatur	Eisschranktemperatur	Brütschrankwärme
für Mäuse . . .	19	22	5 Stunden
„ Ratten . . .	18	20	5 „
„ Kaninchen . .	16	20	6 „

Außer den Fäulnisbakterien können sich auch die pathogenen vermehren, soweit ihnen nicht die Temperatur oder die feindlichen Körpersäfte ungünstig sind. Will man also die Anzahl, Lage und Verbreitung der Bakterien in den Geweben studieren, dann muß man sofort nach dem Tode Organstückchen, womöglich lebenswarm, entnehmen und für etwaige Schnittanfertigung in körperwarme Formalineisessiglösung (s. S. 58) legen.

In bakteriologischen Laboratorien sollen Tierleichen nicht mit der Hand angefaßt werden. Deshalb ist eine Abbalgung in der Regel unzulässig. Vielleicht die einzige Ausnahme davon machen Wutkaninchen; nachdem sie in der üblichen Weise an den Hinterbeinen aufgehängt worden sind, wird ihnen das Fell nach geeigneten Einschnitten über den Kopf gezogen. Bei Obduktionen von größeren Tieren wird man an die von M. Simmonds (C. f. path. A. 06. 1) bei der Oeffnung menschlicher Leichen vorgeschlagenen Gummihandschuhe denken.

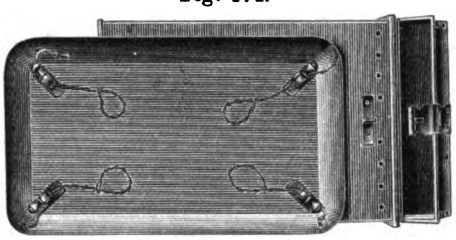
Sonst faßt man die Tiere nur mit Zangen an und taucht sie entweder ganz in Alkohol (Mäuse) oder befeuchtet ihr Fell, zum mindesten

Digitized by Google

in der Gegend der Schnittführung, mit Alkohol, damit die Haare nicht abfliegen.

Die Tiere werden auf weichem Holz geeigneter Brettchengröße mit sogenannten Tuchnadeln oder Nägeln oder Pfriemen angesteckt. Man pflegt auf das Brett noch 1 bis 2 Lagen Fließpapier zu legen, damit das Blut u. s. w. nicht unmittelbar an das Holz gelangen kann und überall leicht sichtbar ist. Diese Bretter haben für Mäuse eine Größe von etwa 12 × 18 cm, für Meerschweinchen 20 × 40, für Kaninchen 40 × 60 cm. Es empfiehlt sich, sie nicht unmittelbar auf den Tisch, sondern in ein Sektionsblech zu legen; ein derartiges s. Fig. 174. Es trägt an den Ecken Exzenterklemmen zum Durchleiten und Festhalten der Schnüre, mit denen die Beine befestigt sind. Das Blech der Fig. 174 ist für ein Meerschweinchen oder eine Ratte geeignet, speziell

Fig. 174.



zum Gebrauch in Pestlaboratorien bestimmt und wird mitsamt dem Tiere nach der Sektion in den dazu passenden Blechkasten geschoben. Danach wird etwa 1 l Wasser eingegossen, der Deckel geschlossen und das Ganze aufrecht in einen größeren Autoklaven gestellt, damit die Leiche vor der Beerdigung oder Verbrennung, also ehe sie aus dem Laboratorium herausgeschafft wird, einwandfrei sterilisiert werden kann. Dies ist aber nur möglich, wenn sich gleichzeitig Wasser im Kasten befindet. Man muß den Dampf lange wirken lassen. Nach den Untersuchungen von M. Rubner dauert es beim einfachen Kochen eines 11 ccm haltenden Fleischstückes 2¼ Stunden, bis die Temperatur von 100° im Innern erreicht ist (AfH. 55. 247).

Die Ausführung der Leichenöffnung soll hier an dem Beispiel einer Mäusesektion geschildert sein. Denn Mäuse werden in bakteriologischen Arbeitsstätten am häufigsten seziert und Obduktionen größerer Tiere gelangen nach denselben Grundsätzen zur Ausführung. Die nötigen Instrumente und Apparate, sowie die Art und Weise der Aufsteckung einer Maus und die Zurückschlagung der Haut vor der Eröffnung der Bauchhöhle zeigt Fig. 175. Dazu ist nur zu bemerken, daß zum Auskochen der Instrumente auch der S. 63 erwähnte, in Fig. 81 abgebildete Apparat oder ein ähnlicher gewählt werden kann, und daß das Brettchen mit der Maus zweckmäßig noch in ein Blechgefäß von der Form einer photographischen Entwicklungsschale gestellt wird. Auch fehlt die Mäusezange, die übrigens durch eine Pinzette ersetzt werden kann, wenn der Kadaver in Spiritus getaucht wird.

Beim Eintauchen wird das Spiritusglas über das Sektionsbrettchen gehalten, damit nicht etwa abtropfender Spiritus auf den Tisch gelangt.

Digitized by Google

Ferner ist es insbesondere zur Sommerszeit sehr wichtig, daß eine große, das Sektionsfeld bedeckende Glocke aus Glas, Metall oder einfacher aus Drahtnetz bereit steht, um die Kadaver vor Fliegen zu schützen.

Messer und Pinzetten werden entweder auf ein Glasbänkchen frei mit der Spitze in die Luft ragend, oder auf ein Messerbänkchen aus Porzellan (Fig. 176) gelegt.

Die **Mäusesektion.** Wenn die Maus aufgespannt wird, wird an einer Ecke des Brettchens ein Wattebausch hinge-

Fig. 176.

legt oder angesteckt, über den man Alkohol gießt, um Pinzetten und Messer leicht von Haaren und Blut durch Abwischen befreien zu können.

Ein Schnitt vom Kinn bis zur Schambeinfuge trennt sorgsam lediglich die Haut durch, ohne die Bauchhöhle zu verletzen.

Abpräparieren, Zurückschlagen und Feststecken der Haut, wie Fig. 175 zeigt.

Besichtigung der Bauchdecken, der Drüsen und der Gefäße. (Die Drüsen zu beiden Seiten am Unterbauch heißen Kniefaltendrüsen. Grauweiße, sehnigglänzende Längs- und Querstreifen der Bauchmuskulatur sind Alterserscheinungen.)

Entnahme eines Blutröpfchens aus der Schenkel- oder Achselvene zum Ausstrichpräparat; zur leichten Erkennung wird der Ausstrich in Form eines V angelegt. Zahlreiche Bakterien finden sich oft in den Drüsen (Ausstrich in Form eines D auf demselben Objektträger).

Ehe weiter gearbeitet wird, soll erst die mikroskopische

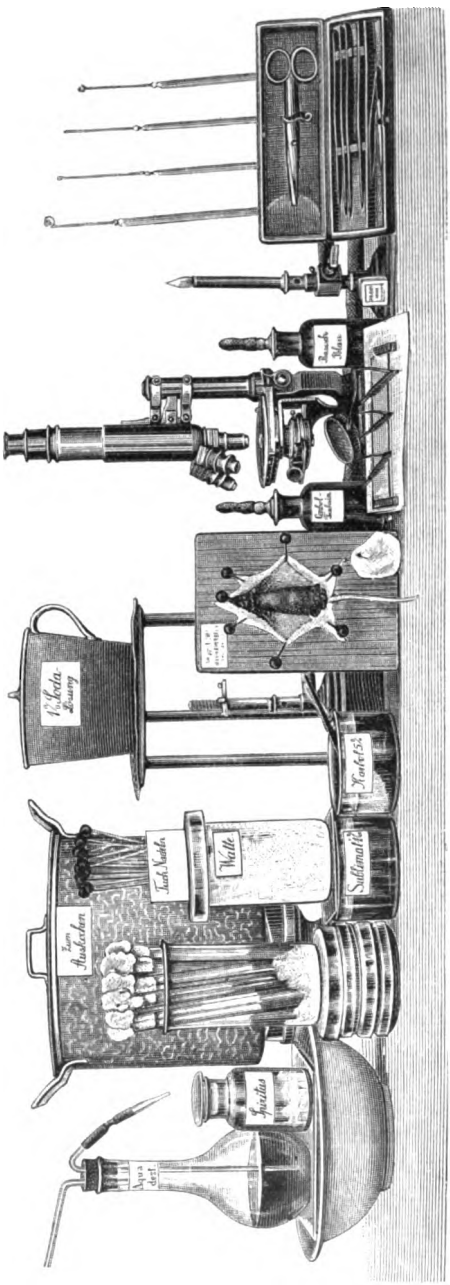


Fig. 175.

Digitized by Google

Untersuchung der gefärbten Ausstrichpräparate vorgenommen werden, um sich zu überzeugen, ob und was für Bakterien vorhanden sind und in welcher ungefähren Reichlichkeit.

Abglühen einiger Pinzetten mit feinen Spitzen; einstweilen beiseite legen.

Erhebung einer Falte der Bauchwand mit einer größeren Pinzette.

Durchtrennung der Bauchwand mit der Messerspitze in der Längsrichtung.

Aufheben der linken Hälfte der Bauchwand mit einer anatomischen Pinzette.

Wenn die Milz noch nicht sichtbar ist, Wegziehen einiger Darmschlingen mit einem Platinhäkchen nach der rechten Bauchseite.

Eingehen mit einer sterilen spitzen Pinzette ohne Berührung eines anderen Teils bis an die Milz, von der ein kleines Stückchen abgerissen wird.

Das Milzstückchen wird auf einer Agarplatte in mehreren parallelen Zügen abgestrichen. Bleibt es darauf liegen, wird es mit dem etwas warm gemachten Platindraht berührt; daran haftet es und läßt sich leicht abnehmen.

Dasselbe Stückchen wird in ein Gläschen mit Bouillon übertragen, aus dem später nach Belieben Gelatineplatten in Verdünnungen angelegt werden können.

Erst jetzt, wenn das Material für die Reinkultur einwandfrei entnommen und versorgt ist, werden die Ausstriche für die färberische Untersuchung gemacht, und zwar folgende drei auf einem Objektträger:

von der Feuchtigkeit u. dergl. des Peritoneums in Form eines P,
„ einem Stückchen Milz in Form eines M,
„ „ „ Leber „ „ „ L.

Dann werden die Bauchdecken beiderseits quer durchschnitten und beiseite gelegt, damit man die Bauchhöhle übersehen kann. Mitunter findet sich eine etwa erbsengroße Blase in der Leber; es ist der Cysticercus fasciolaris, die Finne der Taenia crassicollis.

Zur Untersuchung des Inhaltes der Harnblase wird diese mit einer sterilen Spritze punktiert.

Sollen Proben aus dem Darminhalt entnommen werden, so muß dies an mehreren Stellen geschehen, die einzeln doppelt unterbunden, herausgeschnitten und auf einer sterilen Glasplatte eröffnet werden.

Zur Eröffnung der Brusthöhle werden die Rippenknorpel der linken Seite mit der Spitze eines Messers, die nur so weit, als unbedingt nötig, eindringen darf, durchschnitten. Dann zieht man den Schwertfortsatz mit einer Pinzette in die Höhe und schneidet mit einem frischen Messer die Rippen der rechten Seite von innen durch, ohne mit dem Herzen oder den Lungen in Berührung zu kommen, schlägt das Brustbein ganz zurück und steckt es mit einer Tuchnadel neben oder am Kopfe des Tieres fest.

Eröffnung des rechten Vorhofs mit der Spitze eines sterilen Messers oder eines glühenden Platindrahtes.

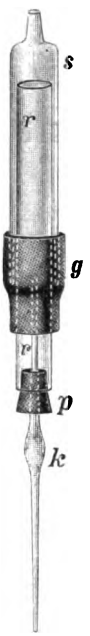
Von dem ausfließenden Blut wird ein Tröpfchen mit der Platinöse auf eine Agarplatte ausgesät.

Digitized by Google

Mit dem übrigen Blut werden Seidenfäden getränkt, wenn man den Infektionsstoff aufbewahren will. Man faßt etwa 7 mm lange sterile Fädchen der Reihe nach mit einer spitzen Pinzette, taucht sie in den Vorhof und legt sie auf einen sterilen Objektträger, der in den Exsikkator übertragen wird.

Bei blutreicheren größeren Tieren kann man außerdem einige Glaskapillaren mit dem Herzblut füllen, was insbesondere bei den die Austrocknung nicht vertragenden Hühnercholerabazillen ratsam ist. Man bedient sich dazu einer der Voigtschen Lymphspritze (Fig. 177) ähnlichen Anordnung: Die Kapillare k, durch den Gummistopfen p ins Rohr r gesteckt, wird gefüllt, indem man das mittels des Gummischlauchstückes g auf r gleitende weitere Rohr s oben zuhält und hochzieht.

Fig. 177.



Zwei Ausstriche auf Objektträger zur Färbung:
vom Herzblut in Form eines B,
von einem abgerissenen Lungenstückchen in Form eines Lg.

Soll zur weiteren Fortführung des Infektionsstoffes die Impfung eines anderen Tieres angeschlossen werden, so nimmt man ein Stückchen irgend eines geeignet scheinenden Organs und schiebt es dem frischen Tier in eine Hauttasche.

Die Herausnahme der einzelnen Organe ist nur nötig, wenn man genauere Untersuchungen in pathologisch-anatomischer Hinsicht anschließen will. Sie werden sämtlich der Reihe nach auf eine Glasplatte oder in ein Petrischälchen gelegt und zugedeckt. Verfahren bei der Entnahme:

Nach Anlegung eines Schnittes rechts und links von der Trachea faßt man diese mit einer Pinzette und zieht sie mitsamt den Lungen und dem Herzen mit Nachhilfe eines Messers heraus.

Von den Organen der Bauchhöhle kommt zuerst die Milz daran. Dann wird der Magen gefaßt, der Oesophagus abgeschnitten und Magen nebst Gedärmen unter Durchschneidung des Mesenteriums freigemacht und über die Blase nach unten geschlagen.

Jetzt erst kann man die Leber samt dem Zwerchfell herausholen; vorher würde das nicht ohne Verlust des hinter dem Magen gelegenen Läppchens abgegangen sein.

Endlich werden die Nieren nach Durchtrennung des Peritoneums entnommen.

Makroskopische Prüfung der Organe auf etwaige Veränderungen.

Beim Einlegen behufs Härtung hüte man sich, am Hals der Flasche anzustreifen.

Schließlich wird die Impfstelle angesehen und ein Abstrich zur Färbung gemacht; denn hier finden sich, wenn auch nicht ganz rein, oft sehr viele Erreger. Die Maus bleibt wie zuvor liegen, die Halswirbelsäule wird durchschnitten, mit einer kräftigen Pinzette gefaßt und der Rumpf unter Nachhilfe mit dem Messer, das dabei die oberen Extremitäten zu durchtrennen hat, vom Fell abgezogen, bis die Impfstelle sichtbar wird.

Nach Beendigung der Obduktion:

Einstellung der Agarplatten in den Brütschrank, Vollendung der

Digitized by Google

Verdünnungen und Ausgießung etwa anzulegender Gelatineplatten. (Währenddessen bleibt der Kadaver vom Drahtnetz bedeckt.)

Die Maus wird im Ofen verbrannt. Wenn kein Feuer vorhanden ist, kann sie auch im Topf gesotten werden. Das Sektionsbrett und die mit den Organen in Berührung gekommenen Glasschalen u. s. w. werden entweder in einem passenden Emailtopf mit der Blutseite nach unten ausgekocht oder zusammen mit der Blechschale im Dampftopf sterilisiert. Bei der Ablösung der Maus vom Sektionsbrett dürfen die Heftnadeln nur mit Pinzetten angefaßt werden.

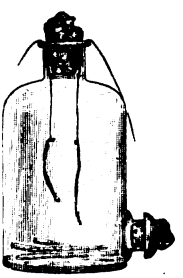
Nadeln, Messer und Pinzetten, sowie die Mäusezange und sonstige etwa gebrauchte Metallgegenstände werden in 1¼proz. Sodalösung ausgekocht.

Einzelne Meerschweinchen oder Kaninchen können in einem größeren Zimmerofen, z. B. einem sogenannten Kanonenofen für Saal-

Fig. 178.

Fig. 180.

Fig. 181.



heizung, verbrannt werden, ohne daß die Umgebung durch Gerüche irgendwie belästigt wird. In größeren Instituten muß ein besonderer Verbrennungsofen beim Stallgebäude vorhanden sein. Außerdem ist man auf Beerdigung angewiesen. Es sei aber dringend davor gewarnt, die Einscharrung durch beliebiges Personal etwa im Hofe oder sonstwo vornehmen zu lassen, ehe nicht der Kadaver durch Behandlung im Autoklaven (s. S. 172) sicher von Infektionsstoffen befreit ist. Selbst dann ist es mangels eines Verbrennungsofens geratener, die Kadaver der Abdeckerei zu übergeben. Wer das nicht tun will oder kann, darf überhaupt mit andern Tieren als mit Mäusen nicht arbeiten.

Sektionsbretter oder -bleche für größere Tiere werden, falls ein genügend großer Dampfdesinfektor nicht vorhanden ist, mit chemischen Desinfektionsmitteln, die Metall nicht angreifen (Lysol = Liquor Cresoli saponatus), behandelt, Bretter können vorher über einer kräftigen Flamme abgesengt werden.

Besonderes Verfahren zur Herausnahme des Rückenmarks bei wutkranken Tieren (Herstellung des Virus fixe). Die nach Trepanation (s. S. 166) mit Virus fixe, d. i. mit der Medullaverreibung von Passagekaninchen geimpften Kaninchen werden, wenn sie ausgesprochene Krankheitserscheinungen (stille Wut) zeigen oder in Agonie liegen, durch Nackenschlag getötet, dann abgehäutet und auf einem

Digitized by Google

größeren Sektionsblech, ähnlich dem der Fig. 174, aufgespannt; zur Unterstützung des Rumpfes wird ein Holzklötzchen 20 × 7 cm und 3 cm hoch unter den Bauch geschoben und der Kopf mit Haken fixiert, die in die Augenhöhlen eingreifen und mit einem Kettchen am Kopfhalter angespannt sind (Fig. 178). Die nötigen Instrumente, sowie dickere Seidenfäden, an denen später das Rückenmark aufgehängt werden soll, sind vorher ausgekocht worden und werden auf einem sterilisierten Tuch bereit gelegt*). Reserveinstrumente in einem Blech-

Fig. 179.

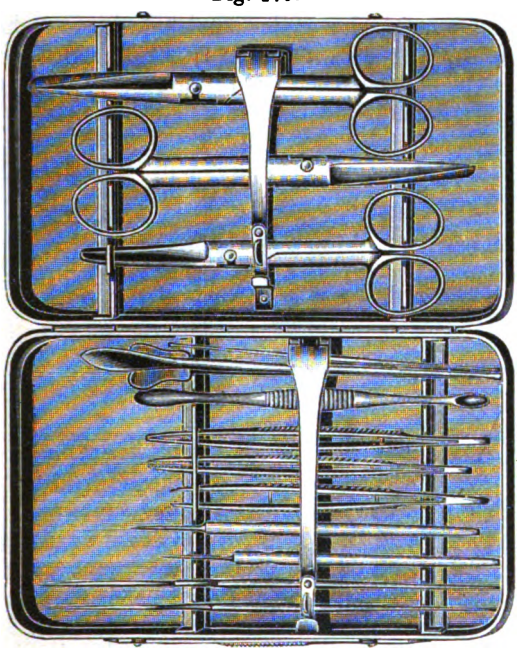


Fig. 182.

kasten, in dem sie trocken sterilisiert werden, enthält das aseptische Besteck nach E. Marx (Fig. 179).

Nachdem der Rücken mit einem in Alkohol oder Lysollösung getauchten, von einer Pinzette gehaltenen Wattestopfen abgewischt ist, schneidet man die Nackenmuskeln mit einem Messer und die Wirbelsäule mit einer durch eine Art Hebelwirkung schneidenden Schere (Fig. 180) durch. Denselben Schnitt legt man in der Nähe des Kreuzbeins durch die Wirbelsäule.

Nun schiebt man einen Stahldraht, dessen Ende mit einem Wattebäuschchen versehen wird, in die unten gemachte Oeffnung des Wirbelkanals, wodurch das Mark am Halsteil herausgedrängt wird. Um das austretende Markende legt man eine Seidenfadenschlinge und zieht diese zu; damit läßt sich das Mark herausziehen. Ist dies etwa bis zur Hälfte geschehen, schneidet man hier ab, hält es über ein von seinem Watte-

*) Die sterilisierten Instrumente in Lysollösung einzulegen, ist zu widerraten, weil beim Herausnehmen die Finger naß werden; die anhaftenden Flüssigkeitstropfen nehmen Hautkeime auf und schwemmen sie, ohne daß das Lysol Zeit hat, sie abzutöten, auf das Operationsfeld und an das Rückenmark.

Digitized by Google

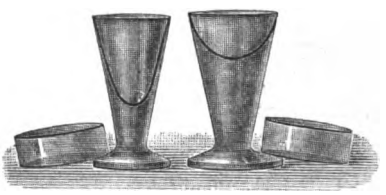
pfropfen für diesen Augenblick befreites Bouillonröhrchen, schneidet mit einer sterilen Schere ein etwa 1 cm langes Stück vom Mark ab und läßt es ins Bouillonröhrchen fallen, worauf dieses mit seinem Wattestopfen versehen in den Brütschrank gestellt wird. (Diese Probe muß keimfrei bleiben, sonst darf das Mark nicht zur Behandlung beim Menschen verwendet werden.)

Das ganze übrige Stück Rückenmark aber wird in eine Flasche gehängt, wie Fig. 181 zeigt; ein Fadenende kann zuvor abgeschnitten werden, das andere hängt über den Flaschenrand heraus und wird vom Wattestopfen festgeklemmt.

Hierauf legt man um den aus der Halswirbelsäule heraussehenden Markstumpf eine Schlinge, schnürt sie zusammen, zieht die zweite Hälfte des Marks vollends aus dem Wirbelkanal und hängt sie ebenfalls in die Flasche, deren Boden mit Aetzkalistücken belegt ist. Diese wird

Fig. 183.

Fig. 184.



in einen Brütschrank, der auf 20° erwärmt ist, gesetzt und bleibt darin 1 bis 14 Tage (Näheres s. L. Heim, Lehrbuch der Hygiene, Stuttgart bei F. Enke, 1903, S. 345). Die Fig. 136 (S. 140) zeigt mehrere solche Gläser in einem mit passenden Fächern versehenen Brütschrank, der auf 20° eingestellt werden kann.

Die beschriebene Methode der Herausnahme des Marks ist von T. Oshida (r. C. 34. 146) angegeben worden. Früher eröffnete man den Wirbelkanal der ganzen Länge nach, wodurch natürlich viel leichter Verunreinigungen ans Mark gelangen konnten; auch wurde dabei die Dura u. s. w. mitgenommen, die bei der späteren Verreibung störte. Immerhin sei auch dieses Verfahren für den Fall geschildert, daß es jemand zu irgendwelchen Zwecken ausführen will.

Zur Eröffnung des Wirbelkanals durchschneidet man die Muskeln vom Hinterhaupt bis zum Becken beiderseits mit einem großen Skalpell, kneift mit der Schere (Fig. 180) die Wirbelsäule in der Nähe des Kreuzbeins durch und eröffnet mit derselben den Rückenmarkskanal, ohne das Mark zu verletzen, bis zum oberen Ende, indem man abwechselnd nach rechts und links einen Scherenschnitt führt. Liegt dann das Mark bloß, durchtrennt man mit einem kleinen schmalen Skalpell sämtliche seitlich abgehenden Nerven und schneidet das Mark am obersten Ende quer durch. Um den Stumpf wird eine Fadenschlinge gelegt und daran das Mark unter leichter Nachhilfe mit dem Messer herausgehoben.

Oeffnung des Kopfes. Der Kopf wird mit einer geeigneten

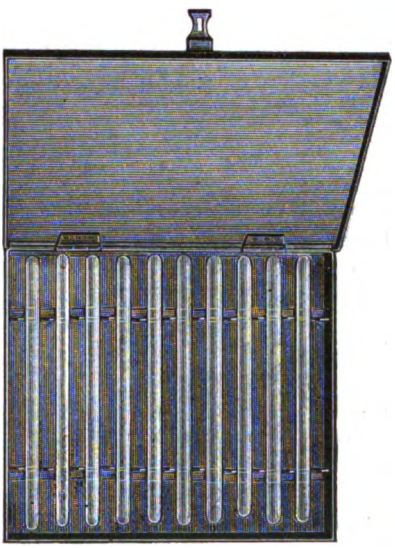
Digitized by Google

Zange (Fig. 182) festgehalten. Eine Knochenschere (Fig. 183) geht seitlich ins Foramen occipitale ein und spaltet den Knochen auf jeder Seite.

Die Hemisphären und das Kleinhirn werden zur Seite gelegt, die Brücke wird durchtrennt und zusammen mit der Medulla in ein tiefes Reibegläschen (Fig. 184a) übertragen, wo es mit einem der in einer Büchse trocken sterilisierten Glasstäbe (Fig. 185) mit einigen Kubikzentimetern Bouillon zu einer gleichmäßigen Emulsion verrieben wird.

Von der gewöhnlichen Emulsion wird ein Tropfen mit einer Spritze, an der eine gebogene Kanüle sitzt (Fig. 169), zwei Kaninchen unter die Dura gespritzt, nachdem sie durch Trepanation freigelegt ist (s. S. 166).

Fig. 185.



Das Glas mit der seichteren Aushöhlung (Fig. 184b) gehört ebenfalls zur Verreibung von Rückenmark, und zwar des verschieden lange getrockneten, für die Einspritzung der zu impfenden Menschen bestimmten Markes (s. auch L. Heim, HR. 02. 581).

Die **Desinfektion der Hände** des Untersuchers ist unter allen Umständen notwendig, wenn sie mit infektiösem Material tatsächlich oder nur möglicherweise in Berührung gekommen sind. Am einfachsten geschieht dies durch Anwendung von Seife, Wasser und Bürste in der Dauer von etwa einer Minute, darauf werden sie ½ Minute in 1promill. Sublimatlösung gebürstet (O. Seitz, C. 37. 721). Gegen starke Verschmutzung der Hände mit Infektionsstoffen, wie sie einmal aus Unachtsamkeit vorkommen könnte, gibt es keine zuverlässige Reinigung und Desinfektion, immerhin wird sie nicht ganz wirkungslos bleiben. Anstatt Sublimat kann man vorteilhaft das Sublamin in 1- bis 3promill. Lösung verwenden, das nach B. Krönig und Blumberg eine verhältnismäßig geringe Aetz- und eine starke Tiefenwirkung hat und keine Fällung mit Blut gibt (MmW. 02. 1443). Die Hände werden infolgedessen nicht so sehr angegriffen wie durch Sublimat. Empfindliche Haut kann danach mit Glyzerin oder Glyzerinhonig eingerieben werden.

Für etwaige durch einen unglücklichen Zufall eintretende ausgedehntere Infizierung durch die Kleider hindurch empfiehlt es sich, im Institut eine Badegelegenheit vorzusehen. Die Kleider müßten in einem solchen Falle im Dampf desinfiziert werden.

Digitized by Google

II. Untersuchungen über die Form- und Lebenseigenschaften der Bakterien.

Die mikroskopischen Merkmale.

Betrachtung im lebenden Zustande.

Ohne Zuhilfenahme der Färbung vermag man fast nur Dinge zu sehen, die sich durch ihr unterschiedliches Lichtbrechungsvermögen erkennen lassen, denn von Natur aus sind die Bakterien mit wenigen Ausnahmen farblos.

Die Untersuchung auf Beweglichkeit geschieht im hängenden Tropfen; sieht man solche, so ist zu entscheiden, ob sie selbständig, eine Eigenbewegung, oder nur scheinbar, eine Molekularbewegung, ist (s. S. 195). Will man die Bakterien zur besseren Betrachtung ruhig haben, so läßt man Osmium-, Formalin- oder Chloroformdämpfe auf sie wirken.

Die Messung der Größe macht man am besten mit dem Okularschraubenmikrometer, aber selbst mit diesem lassen sich kleine Durchmesser, insbesondere der Breite, kaum ganz richtig bestimmen, anderseits ist man bei der Längenmessung oft im Zweifel, ob man ein einzelnes Individuum oder schon zwei oder mehrere, also einen Verband vor sich hat. In wäßriger Suspension erscheinen die Bakterien größer als im trockenen Zustande. Jedesmal sollte angegeben werden, unter welchen Bedingungen die Ausmessung vorgenommen wurde.

Außerdem kann man auf der Mattscheibe des mikrophotographischen Apparates oder an guten Mikrophotogrammen, wenn die Vergrößerung mit Hilfe des Objektmikrometers (s. S. 9) genau bestimmt worden ist, die Größe ermitteln. Das ist sehr einfach; nur muß man sich darüber klar sein, daß, abgesehen von der Färbung und Einbettung der Mikroorganismen, sowohl eine verschieden starke Kopierung des Positivs, als auch die Expositionszeit bei der Aufnahme und die Entwicklung des Negativs merkliche Unterschiede in den Größenverhältnissen bedingen können, Fehler, die insbesondere bei der Ausmessung eines geringen Breitendurchmessers in die Wagschale fallen (s. E. Zettnow, ZfH. 52. 490).

Meist genügt es, die Größe schätzungsweise nach bekannten Objekten, die Länge etwa nach einigen mit ins Gesichtsfeld gebrachten roten Blutkörperchen, die Breite nach ihrem ungefähren Verhältnis zur Länge zu bestimmen.

Die äußeren Umrisse sind darauf anzusehen, ob die Begrenzungs-

Digitized by Google

linien gerade, scharf, parallel oder nicht sind, ob die Enden spitz, abgerundet oder aufgetrieben u. dergl. erscheinen. Im hängenden Tropfen bemerkt man sehr oft einen hellen Hof, der im gefärbten Präparat vermißt wird (Ektoplasma), oder eine unzweifelhafte Kapsel, die dann auch am gefärbten Bakterium als solche unschwer zu erkennen ist (s. Taf. I, Fig. 6).

Im Inhalt fallen mehr oder weniger stärker lichtbrechende Granula oder Körnchen auf, die an den Polen oder mehr nach der Mitte zu liegen, ruhig oder in tanzender Bewegung sein können. Man kann größere helle Stellen bemerken, die Vakuolen, Fettkörner oder Sporen u. s. w. sein können, worüber die färberische Untersuchung weiteren Aufschluß gibt. Sonst sieht man an ungefärbten Bakterien nicht viele Einzelheiten.

Betrachtung im gefärbten Präparate.

Die **Farbstoffaufnahmefähigkeit** prüft man zunächst an drei Ausstrichen, die auf einem einzigen Objektträger gemacht werden können, indem man vorsichtig auf jeden Ausstrich ein Tröpfchen der blauen, roten und violetten Farblösung gibt, nach einigen Sekunden abspült und auch dabei das Ineinanderlaufen vermeidet. Es zeigt sich dann, ob die Bakterien den Farbstoff gleichmäßig aufgenommen haben oder nicht, und welche Farbe am intensivsten wirkt. Nach dieser orientierenden Färbung werden eingehendere Prüfungen vorgenommen.

Phenol-, ja selbst alkoholhaltige Farblösungen machen bei verschiedenen Bakterien Schrumpfungen (s. S. 45), so bemerkt man z. B. nach Färbung mit 5proz. Karbolfuchsinlösung bei Typhusbazillen seitliche Zacken, die ihnen ein kamm- oder sägeförmiges Ansehen geben, oder bei Bac. cyanogenes (Bakterien der blauen Milch) und anderen oft eine c-Form, an der kaum noch die die scheinbar offene Stelle überbrückende Linie wahrzunehmen ist.

Bei Verwendung sehr verdünnter Farblösungen (s. S. 43), die zwischen Objektträger und Deckglas ausgebreitet sind, erkennt man oft unter dem Mikroskop das allmähliche Eindringen des Farbstoffs in die Kleinwesen, indem sich einzelne Stellen oder Körnchen eher und intensiver färben als der übrige Zellleib.

Helle Säume und Höfe findet man nicht selten um die mit Gewebssaft oder Kulturflüssigkeit ausgestrichenen Bakterien; man erkennt zwischen ihnen und dem schwächer gefärbten Untergrund keine weitere, trennende Kontur, sondern lediglich eine der Form des Bakteriums entsprechende größere Lücke, innerhalb deren das Kleinwesen und zwar nicht immer zentral liegt. Wenn man das Vorhandensein einer Kapsel (s. S. 182) ausschließen kann, rühren die Höfe von einer zu den Bakterien gehörigen Substanz her, die die Farbe unter gewöhnlichen Bedingungen nicht annimmt; es ist das im ungefärbten Präparat als stärker lichtbrechende Hülle erkennbare **Ektoplasma** (Zettnow).

Taf. VIII, Fig. 48 zeigt das Vorhandensein des Ektoplasmas an den hellen Höfen zwischen den gefärbten Stäbchen und dem Gewebssaft deutlich; es ist ein Ausstrich von der Impfstelle einer an Bac. enteritidis (Gärtner) gestorbenen Maus.

Digitized by Google

Von dem Ektoplasma gehen bei beweglichen Bakterien die Geißeln aus. Es kommt bei der Geißelfärbung mit zur Darstellung, darum sehen nach ihr alle Bakterien größer, insbesondere breiter aus, als die in gewöhnlicher Weise gefärbten. E. Zettnow ist es durch modifizierte Anwendung seiner Geißelfärbung (s. S. 203) gelungen, das Ektoplasma allein darzustellen, so daß es unter dem Mikroskop als dunkelbraunschwarzer Kontur um den gelben oder bräunlichgelben Bakterienleib erscheint; die gelbe Farbe des ungefärbten Zentralkörpers rührt daher, daß er durch das bräunlichgelb gefärbte Ektoplasma betrachtet wird (ZfH. 52. 491). Man beizt in gewöhnlicher Weise mit Antimontanninbeize (oft genügt lediglich eine 3- bis 5proz. Tanninlösung), spült mit Wasser und tropft Aethylaminsilber auf, das man 10 bis 40 Sekunden oder länger, aber ohne Erhitzung wirken läßt; die richtige Zeit bekommt man durch wiederholte mikroskopische Nachschau heraus.

Eine **Kapsel** besitzen viele pathogene und saprophytische Bakterien; sie färbt sich mehr oder weniger schwach, manchmal ebenso stark wie das Bakterium. Bei günstiger Färbung, die man nicht jedesmal in der Hand hat, ist die hellere Zone von einem zarten, aber deutlich intensiver gefärbten Saum begrenzt (s. Taf. I, Fig. 6). Krankheitserreger zeigen diese Kapsel in ausgesprochener Weise nur im parasitischen Zustande, in Kulturen nur angedeutet und vornehmlich bloß in den ersten Generationen, besser, wenn auch nicht so regelmäßig gestaltet, in flüssigem Blutserum oder in Milch.

Die Kapsel enthält Muzin oder eine ihm sehr ähnliche Masse, und Kulturen derartiger Bakterien zeichnen sich durch eine schleimige Beschaffenheit aus, so daß bei der Berührung mit dem Platindraht millimeter- bis meterlange Fäden gezogen werden können, letztere z. B. bei den Bakterien der schleimigen Milch. Der Inhalt der Kapsel färbt sich wie das Muzin des tierischen Organismus mit gewissen Farbstoffen metachromatisch, insbesondere mit rotstichigem Methylenblau; der in ihr enthaltene oder aus ihr ausgetretene Schleim erscheint im Gegensatz zu dem tiefdunkelblauen Bakterienkörper hellrosa oder dunkler rosa mit einem Stich ins Violette, wenn man geeignete Methylenblaulösungen (s. S. 41) verwendet und dafür sorgt, daß die Wasserspülung nur kurz wirkt und die Trocknung rasch folgt. Unter den pathogenen Bakterien ist diese Erscheinung besonders schön bei Milzbrandbazillen und Micrococcus tetragenus, bei anderen Kapselbakterien ist sie weniger intensiv, aber in Ausstrichen aus dem befallenen Körper stets vorhanden (L. Heim, MmW. 04. 426).

Zur Kapselfärbung empfahl L. Buerger (C. 39. 216) folgendes Verfahren: Die Präparate werden, da Verteilung in Wasser die Kapseln schädigt, nach Ph. H. Hiß in Serum aufgestrichen und nicht in der Flamme, sondern in Zenkerscher Lösung (ohne Essigsäure) mit leichter Erwärmung fixiert. Das Sublimat wird mit Jod und dieses mit Alkohol ausgewaschen. Nach der Färbung wird das Präparat in Flüssigkeit liegend untersucht.

Erforderliche Lösungen: 1. Blutserum mit gleichen Teilen physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, oder Ascites- und Pleuraflüssigkeit.

2. Müllersche Flüssigkeit (Kalium bichromatum 2,5, Natr. sulfuricum 1,0, Wasser 100,0) mit Sublimat gesättigt (durchschnittlich etwa 5 bis 7 %).

Digitized by Google

3. 80- bis 95proz. Alkohol.
4. Jodtinktur, 7proz.
5. Frische Anilinwassergentianaviolettlösung (s. S. 43) oder konzentrierte alkoholische Fuchsinlösung 10 in Wasser 100.
6. 2proz. wäßrige Kochsalzlösung.
7. 5- bis 10proz. wäßrige Lösung von Kal. ferrocyanat.

Ausführung: Auf einem ganz reinen Deckglase etwas Kultur mit einem Tropfen Serum ausstreichen.

Wenn der Ausstrich ungefähr halb trocken geworden ist, mit der Fixierungslösung 2 bedecken; langsam, etwa 3 Sekunden lang über der Flamme erwärmen.

Rasch in fließendem Wasser abspülen.

Einmal durch Alkohol ziehen.

1 Minute lang mit Jod behandeln.

Mehrere Male mit Alkohol abspülen, bis dieser klar bleibt.

An der Luft trocknen.

Färben entweder mit Gentianaviolettlösung 3 Sekunden lang oder mit Fuchsin oder nach Gram, hier mit Fuchsingegenfärbung.

Auswaschen und einschließen in Salzlösung; bei Fuchsin- oder Gramfärbung in Wasser. Mikroskopieren.

Wenn das Präparat aufgehoben werden soll, mit Kaliumferrocyanidlösung abspülen und trocknen. Balsam.

H. Kayser erzielte unter Vermeidung irgend welcher Erwärmung durch Fixierung des feuchten Ausstrichs mit Osmiumsäuredämpfen nach F. Weidenreich zum Einschluß in Balsam geeignete Präparate (C. 41. 138):

1proz. Osmiumsäurelösung, auf je 5 ccm mit 10 Tropfen Eisessig versetzt, wird in einem kleinen Blockschälchen in eine Petrischale gebracht.

Objektträger oder Deckgläser werden auf einem Drahtnetz erst 2 bis 3 Minuten lang den Dämpfen ausgesetzt, dann bestrichen.

Das noch feuchte Ausstrichpräparat mit der Schichtseite nach unten für 2 bis 3 Minuten über der Osmiumsäure liegen lassen.

Lufttrocken werden lassen.

1 Minute lang mit sehr verdünnter Kaliumpermanganatlösung (1 kleiner Kristall in 50 ccm Wasser) bedecken; abspülen, trocknen, einbetten.

Der Bakterienleib und seine Einzelheiten.

Bei vielen Bakterien, Schimmelpilzen, namentlich Oidien, und bei Hefen macht rotstichige Methylenblaulösung metachromatische Rotfärbung einzelner Teile, ähnlich wie in tierischen Zellen und Zellkernen bei Protozoen und Metazoen. Der rote Ton ist tiefer als der bei der Schleimfärbung. Besonders geeignet für diesen Zweck ist die Färbung mit Romanowskyscher Lösung und differenzierende Entfärbung mit Eosinlösung oder die Romanowskyfärbung in der Modifikation von Giemsa, der den wirksamen Farbstoff (Methylenazur, s. S. 42) in reiner Form verwendet. E. Zettnow nennt den sich rotfärbenden Bestandteil **Chromatin**, das, was blau wird, Plasma und zwar speziell **Entoplasma**, während er die ungefärbt bleibende, erst nach vorangeschickter Beizung färbbare Hüllsubstanz samt den etwa von ihr ausgehenden Geißeln als **Ektoplasma** bezeichnet (ZfH. 30. 1).

Schon im Jahre 1890 hatte Bütschli insbesondere an Chromatium Okenii eine farblose Hülle mit weitmaschiger Netzzeichnung und mit Verdickungen an den Knotenpunkten beschrieben, von der die Geißel entspringt; der durch Druck ausquetschbare zähflüssige Inhalt lasse eine äußere, infolge Vorhandenseins von Bakteriopurpurin rotgefärbte Rindenschicht und einen zentralen farblosen Hauptanteil, den Zentralkörper, unterscheiden.

Digitized by Google

Die **Rindenschicht** enthält ein weitmaschiges Netzwerk, das eigentliche Plasma, und in dieses Gerüstwerk (nicht in den Inhalt der Waben) feinstkörnig eingelagert das rote Pigment.

Der **Zentralkörper** besitzt ein feineres Netzwerk, eine wabige Struktur, nicht selten etwas modifiziert, faserig bis knäuelartig. In den Knotenpunkten des Wabengerüstes erscheinen schwach lichtbrechende Körnchen, die nach Färbung mit Hämatoxylin oder alkalischem Methylenblau beide Male rot werden, während das Plasma, das Gerüstwerk, blau wird. Der Zentralkörper entspricht nach O. Bütschli dem Zellkern bei höherer Organisierung, wie denn überhaupt, je tiefer man in der Reihe der Kleinwesen herabsteigt, umsomehr ein Zurücktreten des Plasmas gegenüber dem Zentralkörper bemerkt wird.

Die Verhältnisse bei jenem sogenannten Schwefelbakterium, an dem wegen seiner Größe die Verhältnisse leichter erforscht werden können, dienen als Anhaltspunkte für unsere Vorstellung über den Bau der kleineren Bakterien. Ob letztere eine Membran besitzen, muß noch dahingestellt bleiben, höchst wahrscheinlich ist es nicht der Fall, bei den Spirillen z. B. vermochte Zettnow niemals eine solche wahrzunehmen, anderseits könnte vielleicht der zarte, die Farbe deutlich stärker aufnehmende Saum, den man als Begrenzung der Muzinzone bei Kapselbakterien sieht, als Membran gedeutet werden. Das, was man bei allen Bakterien nach der Färbung mit den gewöhnlichen Anilinfarben kräftig tingiert, speziell bei Anwendung von Methylenblau blau erkennt, ist der der Hauptmasse nach aus Kernsubstanz bestehende Zentralkörper (E. Zettnow, V. Ruzicka u. a).

Die **Körnchen** und **Kügelchen** im Innern können verschiedenerlei Dinge sein. Außer den erwähnten, mit Methylenblau sich rotfärbenden sogenannten Chromatinkörnern gibt es welche, die mit diesem Farbstoff dunkelblauviolett werden. Das sind die sogenannten Babes-Ernstschen oder metachromatischen Körperchen. P. Ernst hat sie in lebenden Kleinwesen in der Weise studiert, daß er eine winzige Spur mit einem Tröpfchen Wasser auf einem Deckglase zerrieb, darüber ein dünnes Holunderplättchen und an dessen Rand ein Körnchen Methylenblau oder Neutralrot legte und im hängenden Tropfen untersuchte (C. II. 8. 1). Solche Körnchen sieht man oft in lebhaft tanzender Bewegung, sehr leicht bei größeren Mikroorganismen in den Vakuolen, z. B. bei Bierhefe, wenn sie sich im hängenden Tropfen einer ganz dünnen, hellblauen Methylenblaulösung befindet. Bei den Diphtheriebazillen ist ihr Aussehen und ihre Lagerung so charakteristisch, daß sie zur Differentialdiagnose benutzt wurden (M. Neißersche Färbung), bei Spirillum volutans sind sie größer und besonders augenfällig, so daß A. Meyer*) sie Volutanskugeln und ihren möglicherweise aus Eiweißkörpern bestehenden Inhalt Volutin genannt hat.

Für die Untersuchung auf diese und andere feine Einzelheiten empfiehlt es sich, stark verdünnte Farblösungen zu gebrauchen,

*) Arthur Meyer, Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena bei G. Fischer.

Digitized by Google

etwa 1 oder 2 Tropfen 2proz. wäßriger Farbstofflösung auf 10 bis 15 ccm destilliertes Wasser (s. a. S. 43).

K. Nakanishi benutzte Objektträger, an denen eine ganz dünne Schicht Farbstoff angetrocknet war und legte Deckgläschen mit einem Tröpfchen der bakterienhaltigen Flüssigkeit darauf. Die Objektträger werden dazu vorher mit nahezu siedendheißer Methylenblaulösung bestrichen und nach der fast augenblicklich eintretenden Trocknung mit einem trockenen Läppchen abgewischt, bis die geeignete Farbennüance erzielt ist. Oder man nimmt warm gesättigte Methylenblaulösung, filtriert sie ab und träufelt dabei einige Tropfen auf den Objektträger; bevor die Lösung eintrocknet, wird mit Filtrierpapier einige Male hin und her gefahren und dadurch rasch so viel abgewischt, bis das Glas eine himmelblaue Farbe bekommt (MmW. 00. 187).

M. Ficker fand zum Studium der Körnerfrage folgendes Gemisch und Verfahren besonders geeignet (HR. 02. 1131):

I. Farblösung: Methylenblau medicinale Höchst 1 : 10 000 100 ccm
Acid. lact. pur. . . . . 2 „

II. Färbemethode: 1. Eine Oese Leitungswasser auf einen glatten, reinen Objektträger.
2. Eine Spur Bakterienmaterial darin gleichmäßig verteilen.
3. Auflegen eines reinen Deckglases.
4. Einen Tropfen Farblösung etwa 1 cm seitlich vom Deckglas aufbringen.
5. Ueberleiten des Tropfens mit der Oese zum Deckglasrand.
6. Einen Fließpapierstreifen mit der Pinzette an den gegenüberliegenden Rand des Deckglases halten.
7. Nach Ansaugung der Farbe Verbrennen des Fließpapiers und einige Minuten warten. Mikroskopieren.

Je nach dem mikroskopischen Befund ist 4 bis 7 ein oder mehrere Male zu wiederholen.

Naphtholblaukörnchen wurden von A. Dietrich und G. Liebermeister Granula genannt, die sich auf folgende Weise färben ließen: Zum Hängetropfen mit Holundermarkplättchen und Bakterien fügt man zuerst ein Tröpfchen einer etwa 1proz. Lösung von Dimethylparaphenylendiamin und dann einer Lösung von α-Naphthol (frisch umkristallisiert) in 1proz. Sodalösung hinzu und beobachtet, wie sich bald die betreffenden Bakteriengranula blau färben und nachher stark dunkelblau werden, während der übrige Bakterienleib völlig ungefärbt bleibt. Sie haben mit den Babes-Ernstschen Körperchen zwar die Dunkelblaufärbung mit Methylenblau gemein, lassen sich sogar damit am besten darstellen, unterscheiden sich aber von ihnen durch ihr Verhalten gegenüber chemischen Reagenzien und dem Kochen, dem sie widerstehen. Sie wurden nur bei Aerobiern gefunden, wenn auch nicht bei allen, und werden von den Autoren als Sauerstoffüberträger angesehen, die den molekularen Sauerstoff der Luft aktivieren. Bei Ausschluß der Luft tritt die Reaktion mit Naphtholblau nicht ein (C. 32. 859).

Vakuolen sind helle Räume im Leibe der Kleinwesen, entweder mit Zellsaft oder mit Reservestoffen, wie Glykogen, Fett, gefüllt.

Zellsaftvakuolen sind bei Hefen ohne weiteres, bei Bakterien nicht so häufig zu sehen, regelmäßig finden sie sich nach A. Grimme bei Bac. cohaerens und zeigen sich im frischen Präparate meist erst nach Zusatz von Jodjodkalium; sie sind dann bei höherer Einstellung dunkelgelb, bei tieferer hellgelb oder ungefärbt.

Digitized by Google

Glykogen ist im ungefärbten Bakterium nicht zu sehen, im stark gefärbten tritt es als hellfarbige, unregelmäßig gelagerte Masse hervor, weil es mit Zytoplasma durchsetzt ist. In Kanadabalsam eingebettete Bakterien bleiben infolge Schrumpfung des übrigen Leibes dort dicker, wo mit Glykogen vollgestopfte Abschnitte liegen; oft ist das nur an einem Pole der Fall, dann entsteht eine keulige Anschwellung, oder in der Mitte, dann sieht man bloß an den Polen bipolare Färbung auftreten. Nach Einwirkung von verstärkter Jodjodkaliumlösung (2 : 1 : 100 Aq.) tritt es als braunrotgefärbte Masse hervor. Es wird als Reservestoff von vielen Bazillen vor der Sporenbildung gespeichert (A. Grimme, C. 32. 254).

Bei den sogenannten Amylobakterienarten kommt eine mit verdünnter Jodjodkaliumlösung sich blau färbende Substanz vor; sie wird gewöhnlich Granulose, von A. Meyer Iogen genannt, um anzudeuten, daß sie wahrscheinlich mit der Stärkesubstanz nicht identisch ist.

Fett. Die Tröpfchen sind stark lichtbrechend und färben sich nicht mit Methylenblau, wohl aber mit Jodjodkaliumlösung erst gelb, dann braun, mit Sudan rot, mit Scharlach (L. Michaelis, DmW. 01. 183) gesättigter rot, mit Buttergelb gelb. Die Farbstoffe werden zu 0,5 % in 70proz. Alkohol gelöst; 96proz. Alkohol soll man wegen seiner fettlösenden Eigenschaft vermeiden. Anderseits darf man aber nicht erwarten, daß fettlösende Mittel, wie Chloroform, die Fetttropfen aus undurchlässigen Membranen sicher herauszulösen im stande sind.

Außer jenen Farbstoffreaktionen gibt A. Meyer Eau de Javelle zur sicheren Erkennung von Bakterienfett an, namentlich wo es sich schon im ungefärbten Präparat um die Unterscheidung von Sporen handelt: die Spore quillt, verliert ihren Inhalt und nur ihre Membran bleibt erhalten, das Bakterienfett aber hält sich sehr lange in ihr.

Die Javellesche Lauge wird folgendermaßen bereitet: 200 g Chlorkalk (am besten in der Packung von Heister aus den Apotheken zu beziehen) werden mit 1450 g destillierten Wassers fein verrieben, in eine mit gut schließendem Stöpsel versehene Flasche gegeben und mit einer Lösung von 250 g Natriumkarbonat in 450 g Wasser gemischt. Die Mischung wird unter wiederholtem Umschütteln 4 Tage im Dunkeln stehen gelassen und dann filtriert. Das Filtrat wird so lange mit einer 10proz. Kaliumoxalatlösung versetzt, als noch ein Niederschlag entsteht. Nach dem Absetzen des Niederschlags wird filtriert.

Chloralhydratlösung, die A. Meyer ebenfalls empfiehlt, ist nach Dietrich und Liebermeister nicht besonders geeignet, denn sie hellt vermöge ihrer starken Lichtbrechung zu stark auf und kann so eine Lösung vortäuschen, obwohl sie noch nicht erfolgt ist.

Farbstoffe in Bakterien. Sogenannte Schwefelbakterien, wie Chromatium Okenii, enthalten einen roten Farbstoff, das Bakteriopurpurin, das nach Bütschli*) in der Rindenschicht sitzt und in Alkohol leicht löslich ist. Dabei werden aber die Chromatien zunächst nicht farblos, sondern grün, weil ein anderes, mit Alkohol schwerer ausziehbares, chlorophyllartiges Pigment zurückbleibt. Die Sporen des Bacillus erythrosporus werden als deutlich rot beschrieben. Auch

*) O. Bütschli, Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Leipzig bei C. F. Winter. 1890.

Digitized by Google

einige grüne Bakterien kennt man. In Prodigiosusstäbchen kommen rote Körnchen vor. Sonst erscheint ein Farbstoff bloß außerhalb des Leibes als Stoffwechselprodukt in den Kulturen; denn die allermeisten Bakterien, auch die farbstoffbildenden, sind farblos.

Sporen sind hellglänzende, stark lichtbrechende Gebilde von runder oder ovaler Form, die, soweit unsere Kenntnisse reichen, nur bei Stäbchen vorkommen. Verschiedene andere ähnlich helle Gebilde, wie Granula, Fettkörnchen, können mit ihnen verwechselt werden, und wenn man im Zweifel ist, muß man die zur Unterscheidung von letzteren genannten chemischen Reagentien heranziehen, ferner geeignete Färbungen versuchen, die Bildung der Spore und die Auskeimung des Stäbchens aus der reifen Spore verfolgen und die Widerstandsfähigkeit gegen chemische und thermische Einflüsse prüfen. Denn eines der hervorstechendsten Merkmale ist die Hitzebeständigkeit. Während zwischen 80 und 90° alle vegetativen Formen — so heißt man die nichtsporentragenden Teile — in wenigen Minuten absterben, bleiben Sporen bei diesen Wärmegraden noch ungeschädigt, sie können selbst die Siedehitze ertragen, einige Arten nur kurze Zeit bis einige Minuten, andere Viertel- und ganze Stunden lang, ja es gibt welche, die selbst bei 5stündigem Aufenthalt im strömenden Dampf noch nicht sicher abgetötet worden sind.

Die Sporen sind sowohl eine Frucht- als eine Dauerform (A. Gärtner, r. C. 35. 275), sie dienen zur Erhaltung der Art selbst unter sehr ungünstigen, für viele andere Lebewesen bereits verderblichen Bedingungen. In einem Stäbchen findet sich in der Regel nur eine Spore; von Bazillen, die in jedem Stäbchen 2 Sporen bilden, ist bis jetzt mit Sicherheit nur eine Art, bei der dies regelmäßig der Fall ist, bekannt geworden, nämlich der Bacillus Bütschlii, ein auffallend großes, langsam bewegliches, aber nicht züchtbares Stäbchen mit deutlich erkennbarer alveolärer Plasmastruktur, dem F. Schaudinn im Mitteldarm der Küchenschabe begegnete und Bütschli zu Ehren jenen Namen gab (Arch. f. Protistenkd. 1. 306). Bei anderen Bazillen ist das Vorkommen von 2 Sporen nur ausnahmsweise gesehen worden und überhaupt nicht ganz sichergestellt, so bei Dispora caucasica, einem im Jahre 1881 von Kern im Kefirferment gefundenen Stäbchen.

Mittel- und endständige Sporen werden je nach ihrem Sitze unterschieden. Sie bauchen das Stäbchen oft aus; wenn das am Ende geschieht, spricht man von Trommelschlegel- oder Kochlöffelform, so beim Bac. tetani und anderen, namentlich in der Erde viel verbreiteten Bazillen.

Gegenüber diesen endogenen Sporen hat man das Vorkommen von Arthrosporen (ἄρθρον, das Glied, A. de Bary, Hueppe) angenommen, die die Arterhaltung unter ungünstigen Verhältnissen insbesondere bei Kokken und Spirillen besorgen und sich als meist rundliche, die Färbung weniger gut annehmende Glieder mit verdickter Membran differenzieren sollen. Es handelte sich jedoch bei den speziell bei Choleravibrionen auftretenden rundlichen, kokkenähnlichen, schlecht färbbaren Gebilden lediglich um Entartungs- oder Alterserscheinungen.

Die Bedingung der Sporenbildung liegt nach H. Buchner (C. 8. 1) in dem eintretenden Mangel an Nährmaterial, nicht in dem

Digitized by Google

bestehenden, denn zunächst muß sich der vegetative Teil entwickeln, ehe die Spore aus ihm hervorgehen kann. Bei häufiger Erneuerung der Nährlösung ließ sich die Sporenbildung hintanhalten, sie erfolgte aber bald, wenn die regelmäßige Auffrischung unterlassen wurde. Da destilliertes Wasser den Milzbrandbazillen nur für kurze Zeit zur Vermehrung dienen kann, läßt sich darin eine günstige Sporenernte erzielen. H. Buchner hat als geeigneten festen Nährboden für die Gewinnung reichlichen Sporenmaterials Fleischwasseragar, in gewöhnlicher Weise zubereitet und alkalisiert, aber ohne Pepton, angegeben und wir benutzen ihn neben der Kartoffel mit Vorliebe zu diesem Zwecke.

Die Bildung und Auskeimung der Sporen kann unter dem Wärmemikroskop am besten bei etwa 30° verfolgt werden. Bei beweglichen Bakterien setzt man dem hängenden Tropfen etwas Agar zu. Nach den Untersuchungen von A. Mühlschlegel (C. II. 6. 65) spielen sich die Vorgänge bei Bazillen mit mittelständiger Sporenbildung folgendermaßen ab:

Im Stäbchen treten zunächst deutliche Kügelchen auf, die sich bei Anwendung einer Sporenfärbung blasser rot tingieren als die spätere Spore.

Nahe einem Pol erscheint eine graue, glanzlose Masse.

Sie zehrt einen Teil der Kügelchen auf und bekommt in der Mitte einen lichtbrechenden Punkt, der säurefest ist.

Dieser Punkt verbreitert sich allmählich nach außen zur lichtbrechenden Spore; der Aufbau der Sporen geht also von innen nach außen vor sich.

Dann rückt er mehr in die Mitte und zehrt dort noch einige nahe gelegene Kügelchen auf; der Rest der Kügelchen entleert sich mit der fertigen Spore nach außen.

Im Laufe der nächsten Tage umgibt sich die Spore mit einer Schale, an der 2 Teile zu erkennen sind:

das elastische Ektosporium;

das breitere (bis 0,6 μ breite) Endosporium*).

Das Endosporium schließt den „Glanzkörper", der wahrscheinlich membranlos ist, ein.

Der Glanzkörper bedingt die schwere Färbbarkeit der Spore.

Bei der Auskeimung reißt oder schmilzt das Ektosporium und das junge Keimstäbchen tritt polar oder äquatorial hervor. Die Art der Sporenkeimung, ob polar, bipolar oder seitlich (äquatorial), ist kein absolut sicheres Merkmal für bestimmte Bazillenarten (s. a. O. Gottheil, C. II. 7. 456; G. Caspari, AfH. 42. 71).

Das Innere des jungen Stäbchens behält noch etwas von der Säurefestigkeit der Spore bei, die mit der weiteren Entwicklung schwindet.

---

*) Exine und Intine nennt A. Meyer diese beiden Teile der Membran. Seinen Darlegungen zufolge kann man an der Exine bei Bac. asterosporus Leisten sehen, namentlich wenn die Spore aufrechtstehend angetroffen wird. Jod-jodkaliumlösung färbt zunächst nur die Exine, dann die ganze Spore. Wenn Sporen durch Druck auf das Deckglas zerquetscht worden sind, kann man nach Zusatz von Fuchsin- oder Methylenblaulösung finden, daß Exine und Intine zugleich gefärbt werden.

Digitized by Google

Sporenfärbung. Die erste isolierte Färbung machte H. Buchner im Jahre 1884. Er ließ konzentrierte Schwefelsäure oder starke Kalilauge etwa 25 Sekunden auf das fixierte Präparat wirken. Die Säure ist vorzuziehen. Wenn danach in gewöhnlicher Weise gefärbt ist, erscheinen die Sporen — aber durchaus nicht immer — intensiv vom Farbstoff durchdrungen; sie liegen teils noch innerhalb der Stäbchen, teils außerhalb, offenbar infolge eingetretener Quellung herausgedrückt, während der vegetative Teil an Farbstoffaufnahmevermögen erhebliche Einbuße erlitten hat.

Die ersten Doppelfärbungen sind 1884 von A. Neißer und F. Hueppe angegeben worden. Die späteren Verfahren lehnten sich vielfach an die Tuberkelbazillenfärbung an, indem meist mit Karbolfuchsin in der Wärme, ja sogar unter Kochen gefärbt, dann mit Säure, aber nicht mit Alkohol entfärbt und mit einer Gegenfarbe für den vegetativen Teil nachgefärbt wurde. Die Sporen sind jedoch durchaus nicht so säurefest wie die Tuberkelbazillen, worauf E. Thesing hingewiesen hat. Es ist empfehlenswerter, mit Alkohol zu entfärben. A. Müller nimmt an Stelle der Säure das schonendere Wasserstoffsuperoxyd, aus dem die in der Lösung befindliche Säure mit Sodalösung, bis zur deutlichen alkalischen Reaktion zugesetzt, entfernt worden ist. Auch eine frisch bereitete 5- bis 10proz. Lösung von Kaliumperkarbonat ($K_2C_2O_6$) sei dazu geeignet. Man kann die Präparate einige Minuten darin liegen lassen (in Blockschälchen) aber auch eine 1 Stunde währende Wirkung des Entfärbungsmittels soll nichts schaden (C. 29. 791).

Von den mancherlei angegebenen Methoden seien drei beschrieben, zunächst die von A. Klein, die auch ohne Vorbehandlung (s. später) sicher wirkt, weil bei ihr die Sporen allseitig von der Färbeflüssigkeit umgeben sind, während sie beim gewöhnlichen Trockenpräparat nur einseitig von ihr erreicht werden. Die vom Autor angegebene Vorschrift ist (C. 25. 376):

Von einer 24 Stunden alten Kartoffelkultur, z. B. von Milzbrandbazillen, wird eine Platinöse voll genommen und die Kulturmasse in 2 bis 3 Tropfen physiologischer Kochsalzlösung in einem Uhrglase zu einer gleichmäßigen Emulsion vermengt. Dieser werden ebensoviele Tropfen einer frisch filtrierten Karbolfuchsinlösung zugesetzt und beide Flüssigkeiten einen Augenblick durcheinandergerührt. Das Uhrglas wird nun sehr hoch über eine kleine Flamme gesetzt und so lange erwärmt, bis leichte Dämpfe aufsteigen und nicht weiter. Während das Uhrglas von einem etwas größeren bedeckt ist, färbt man so 6 Minuten, nimmt dann das Uhrglas von der Flamme und läßt einige Augenblicke abkühlen. Unter geringer Bewegung der Flüssigkeit sorgt man für gleichmäßige Verteilung der Bazillen und Sporen und entnimmt dann je eine Platinöse zu Ausstrichen auf Deckgläser. Sind die Präparate lufttrocken geworden, werden sie 2mal durch die Flamme geführt. Hierauf Entfärbung in 1proz. Schwefelsäure während 1 bis 2 Sekunden, Abspülung in Wasser, Nachfärbung mit verdünnter alkoholischer Methylenblaulösung, ohne zu erwärmen, 3 bis 4 Minuten. Abspülung, Trocknung, Balsam.

Die Kulturen brauchen natürlich nicht gerade von Kartoffeln zu stammen; anstatt der Uhrgläser nehme ich ein Reagenzglas, in dessen

Digitized by Google

Kuppe das Gemisch von Farblösung und Sporenmaterial erwärmt wird. Anstatt mit 1proz. Schwefelsäure spüle ich mit Alkohol ab.

Durch eine Art Beizung haben verschiedene Autoren eine bessere Aufnahmefähigkeit der Sporen für Farbstoff zu erzielen versucht, so R. Fiocca durch Verwendung einer ammoniakalischen Farblösung (C. 14. 8), G. Foth mit Wasserstoffsuperoxyd (C. 11. 272), R. Bunge mit Natriumdioxyd (FdMed. 13. 813), A. Aujeszky mit ½ proz. heißer Salzsäure (C. 23. 329 und 24. 324), H. Moeller mit Chlorzinkjod oder mit Chromsäurelösung nach Vorbehandlung mit Chloroform. Das nicht ganz einfache, aber als zuverlässig bezeichnete Verfahren nach H. Moeller verläuft im einzelnen also:

Deckglaspräparat entweder 3mal durch die Flamme ziehen oder 2 Minuten in absolutem Alkohol fixieren.

In Chloroform für 2 Minuten legen zur Entfernung von Fetttropfen, Lezithin, Cholestearin. Wasserspülung.

In 5proz. Chromsäurelösung eintauchen, je nach der Sporenart verschieden lang, 30 Sekunden bis 2 bis 5, ausnahmsweise bis 10 Minuten. Für empfindlichere Sporen in Chlorzinkjod (s. unten). Man behandle 2 Präparate, eines 30 Sekunden und eines 2 Minuten.

Karbolfuchsin aufträufeln und 1 Minute in der Flamme unter 1- bis 2maligem Aufkochen erhitzen. Danach kann man abkühlen lassen. Farbstoff abgießen.

Kurz, etwa 1 Sekunde, in 5proz. Schwefelsäure spülen. Bei Weglassung der Schwefelsäurespülung reinigt A. Mühlschlegel (KGA. Arb. 15. 140) den Rand des Deckgläschens mit schwacher Salzsäure.

Methylenblau oder Malachitgrünlösung ½ bis 2 Minuten.

Bei empfindlichen Sporen, z. B. gewissen Heubazillenarten, kann eine 30 Sekunden lange Chromsäurewirkung noch zu stark sein; dann nehme man das schwächer wirkende Chlorzinkjod in konzentrierter Lösung; es genügt auch Chlorzink ohne Jodzusatz, aber die Gelbfärbung mit Jod läßt den Grad der Einwirkung erkennen.

Das Verfahren von E. Thesing ist einfacher, läßt sich in 2 bis 5 Minuten ausführen und gibt bei Sicherheit des Erfolges ohne Schädigung des vegetativen Teils gute Kontraste (AfH. 50. 254):

Das lufttrockene Präparat 3mal durch die Flamme ziehen.

Bedecken mit 1proz. Platinchloridlösung und Erhitzen bis zu einmaligem Aufkochen über der kleinen Bunsenflamme.

Abspülen mit Wasser. Trocknen zwischen Filtrierpapier.

Auftröpfeln von Karbolfuchsin in reichlicher Menge und schnelle Erhitzung über der kleinen Flamme bis zum einmaligen Aufkochen.

Abgießen der Farblösung, aber nicht mit Wasser spülen!

Uebergießen mit etwa 33proz. Alkohol und sofort gründlich abspülen.

Trocknen zwischen Filtrierpapier.

Nachfärbung mit alkalischer Methylenblaulösung 3 Minuten kalt (besser als einige Sekunden unter schwacher Erwärmung).

Abgießen. Abspülen mit Wasser. Trocknung. Balsam.

Die **Widerstandsfähigkeit** der Sporen ist nicht nur, wie bereits erwähnt, bei den einzelnen Arten recht erheblich verschieden, sondern

Digitized by Google

kann es auch bei derselben Art je nach dem angewendeten Nährboden, der Züchtungstemperatur und dem Alter der Kultur sein. In letzterer Hinsicht hat E. Neide (C. II. 12. 3) bei einigen Bazillen aus Milch gefunden, daß 6 Monate alte Kulturen etwa 10mal länger die Siedehitze aushielten als 2 bis 3 Wochen alte (120 Minuten gegenüber 10 Minuten); bei anderen Arten trat das nicht zu Tage, so starben z. B. Sporen von Bac. alvei im siedenden Wasserbade in 10 bis 11 Minuten ab, mochten sie nur 16 Stunden oder 7 bis 12 Monate alt sein. Jedenfalls soll man zu Versuchen nicht zu junge, lieber etwa 4 Wochen alte Kulturen nehmen.

Die Prüfung der Widerstandsfähigkeit gegenüber strömendem Dampf wurde zuerst von R. Koch und seinen Schülern mit infizierten Seidenfäden ausgeführt. Je 2 bis 3 Fäden werden in ein Beutelchen von einfacher Lage Mull gegeben, das oben zusammengebunden oder mit einer kleinen Klemme zusammengehalten wird. An dünnen Drähten, die sich nicht verwirren können, führt man sie unter geringer Lüftung des Deckels ein, sobald der Dampf reichlich strömt, und nimmt sie nach der bestimmten Zeit, während deren die Dampfentwicklung durch eine entsprechend große Flamme sehr reichlich gehalten werden muß, wieder heraus. Danach werden die Paketchen auf einer sterilisierten Glasplatte mit sterilisierten Pinzetten und Scheren geöffnet und die Fäden in Bouillon übertragen, um bei Brütschrankwärme etwaiges Auswachsen zu fördern.

Fig. 186.

Bei diesen Versuchen läßt es sich nicht vermeiden, daß während der Lüftung des Deckels zu viel Dampf entweicht und so die Zeit, in der die nächsten Proben der Siedetemperatur ausgesetzt waren, nicht mehr sicher bestimmt werden kann. Dieser Fehler ist geringer, wenn der Wasserraum des Dampfapparates einen größeren Durchmesser hat, als der Zylinder, wie es bei den neueren Mustern der Fall ist.

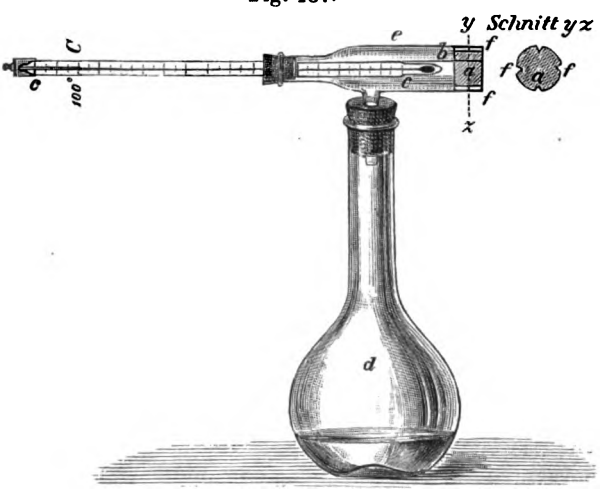
Mit dieser Berücksichtigung ist ein dem gewöhnlichen Dampftopf ganz ähnlicher Apparat mit kleineren Ausmaßen im Hamburger hygienischen Institut konstruiert worden, der außerdem (s. Fig. 186) mit seitlichen Rohrstutzen versehen ist, um die Einführung der Objekte ohne Oeffnung des Deckels bewerkstelligen zu können. Wenn der Dampf reichlich strömt, wobei das angebrachte Manometer einen sehr geringen Ueberdruck von etwa 1 cm Wassersäule zeigt, nimmt man die Gummistopfen der Reihe nach mit Hilfe einer Schmelztiegelzange heraus und ersetzt sie rasch durch andere, in denen Klemmen als Träger des Prüfungsmaterials stecken. Man notiert die Zeit genau, um die Objekte nach der in einem Plane festgelegten Frist pünktlichst wieder aus dem Dampfe nehmen zu können. Die Seidenfäden direkt von den Klemmen halten zu lassen, empfiehlt sich ebensowenig wie

Digitized by Google

die Einlegung in Drahtkörbchen, wo sich leicht Kondenswasser sammelt. Ich klemme ein Leinwandläppchen von etwa 4 cm im Geviert ein und lege je 2 Seidenfäden in eine der dadurch gebildeten Falten.

Einen einfacheren und billigeren Apparat kann man sich aus Glas herstellen lassen, wie er von Ohlmüller (Fig. 187) und in ähnlicher Ausführung von W. v. Brunn (C. 28. 309) angegeben worden ist. Sobald das in d befindliche Wasser kocht, wird der Kork a, an dem sich ein Tischchen aus feinem Drahtgewebe befindet, mit den rund ausgeschweiften Armen einer Tiegelzange eingeführt, so daß sich die darauf liegenden Fäden gerade über der Quecksilberkugel des Thermometers c befinden. Vier Einschnitte f im Kork gestatten dem

Fig. 187.



Dampf den Austritt. Nach bestimmter Zeit nimmt man das Bakterienmaterial zur Ueberimpfung wieder heraus (KGA. Arb. 8. 238).

Anstatt im Dampf kann man auch im siedenden Wasserbade prüfen, wozu noch einfachere Anordnungen zu gebrauchen sind. A. Meyer (Praktikum S. 128) verfährt folgendermaßen:

Sterile Reagenzröhrchen von 8 bis 9 cm Länge und 8 bis 9 mm lichter Weite werden 1 cm hoch (nicht höher!) mit sterilem Wasser gefüllt und dieses, ohne an den Wänden anzustreifen, mit Sporenmaterial geimpft. Dann nimmt man eine etwa 1 cm dicke Korkplatte von 8 cm Durchmesser, bohrt 9 mm weite Löcher aus, steckt die Reagenzröhrchen hinein und setzt sie so in einen Topf von etwa 8 cm Weite und 10 cm Höhe, in dem bereits Wasser zum Sieden gebracht worden ist. Der Zeitpunkt des Eintauchens wird notiert, nach Ablauf der festgesetzten Frist nimmt man je ein Röhrchen heraus und überträgt es sofort in ein Glas mit kaltem Wasser; dabei muß man sich hüten, daß die Flüssigkeit im Reagenzgläschen mit dem Teil der Glaswand in Berührung kommt, der außerhalb der Zone des siedenden Wassers stand, denn es könnte dort von der Impfung her noch ungeschädigtes Sporenmaterial haften. Um dieses sicher zu entfernen, wird der ganze obere Teil des gekühlten Röhrchens in der Flamme

Digitized by Google

abgeglüht. Nach dem Erkalten wird der Wattepfropfen herausgenommen und der Inhalt auf die Oberfläche eines Agarröhrchens ausgegossen, das dem Brütschrank übergeben und nach 4 Tagen sowohl mit bloßem Auge auf Entwicklung, als mikroskopisch auf die Reinheit der allenfalls gewachsenen Kulturen untersucht wird.

Eine Prüfung unmittelbar im siedenden Wasser zu machen, würde zu falschen Ergebnissen führen; denn abgesehen davon, daß Sporenmaterial durch Verspritzen der Wirkung entgehen kann, ist durch Versuche mit milzbrandsporenhaltigen Fäden und Haaren direkt erwiesen, daß die Abtötung in siedendem Wasser später und unregelmäßig statthat.

Um die Wirkung von Temperaturen, die unter oder über Siedehitze des Wassers liegen, zu prüfen, hat A. Meyer einen Kochtopf mit doppelter Wand angegeben, dessen Deckel eine dicke Einlage von Asbest und einen Rohrstutzen für das Thermometer trägt. Der Topf selbst wird, wenn bei Wärmegraden unter 100°, z. B. bei 80°, geprüft werden soll, mit Wasser gefüllt, der Zwischenraum in der Doppelwand dagegen mit einer Flüssigkeit, deren Siedepunkt bei der gewünschten Temperatur liegt, für 80° z. B. ein Gemisch von Aethylpropylalkohol 7 : 4. Damit diese Flüssigkeit nicht verdampfen kann, ist der Zwischenraum oben abgeschlossen und mit einem Rückflußkühler versehen, durch den fortwährend rasch kühles Wasser geleitet wird. Bei dieser Wärme sind zur Desinfektion oft so viele und mehr Stunden nötig, als bei 100° Minuten.

Eine Steigerung der Widerstandsfähigkeit der Sporen durch mehrfache Erhitzungen nicht ganz bis zur Abtötungsgrenze und nachfolgende Aussaaten läßt sich nur scheinbar erzielen, in Wirklichkeit handelt es sich um stattfindende Auslese. So hat W. Migula aus schlecht oder mangelhaft sporulierenden Stämmen welche erhalten, bei denen jeder Bazillus wieder eine Spore bildete. Er erhitzte eine 4 Wochen alte Kartoffelkultur von Milzbrandbazillen, die nur vereinzelte Sporen besaß, 15 Minuten auf 90°; Aussaaten davon auf Agar lieferten nur vereinzelte Kolonien; davon wurden wieder Kartoffelkulturen angelegt, diese nach 8tägigem Wachstum ebenfalls 15 Minuten auf 90° erhitzt und das Verfahren mehrmals wiederholt (Zeitschr. f. angew. Mikroskopie 5. 1).

Eine Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit der Sporen in folgenden Generationen aus erhitzten Kulturen habe ich bei sehr resistenten Bazillen beobachtet, die ich aus verunreinigter Gelatine erhalten hatte (C. 13. 649). Später ist im Hamburger hygienischen Institut eine ähnliche Beobachtung am roten Kartoffelbazillus gemacht und das Ergebnis dazu verwendet worden, um für die Prüfung von Dampfdesinfektionsapparaten geeignetes, gleichmäßig beständiges und ungefährliches Material zu gewinnen. Die Untersuchungen von R. Weil (C. 30. 531) zeigen aber, daß das nicht mühelos gelingt. Man kann sich die Arbeit meines Erachtens sparen, wenn man Sporen nimmt, die von Haus aus den gewünschten Grad von Hitzebeständigkeit haben (s. bei Desinfektion).

Zur Befreiung der Sporen von dem vegetativen Teil erhitzt man bei Temperaturen, die die Sporen voraussichtlich nicht schädigen. Für Milzbrandmaterial genügt nach J. Forster eine

Digitized by Google

1 Minute dauernde Erhitzung auf 80°, in der Praxis nimmt man zur Sicherheit 2 Minuten (R. Weil, AfH. 35. 355). Für solche kurzdauernde Versuche ist ein besonderer Apparat nicht erforderlich, die Temperatur des Wasserbades läßt sich in einem nicht zu kleinen Topfe durch Regelung der Flamme leicht auf der gewünschten Höhe halten. Außer den geimpften Röhrchen gibt man noch eins mit ins Wasserbad, das die gleiche Menge ungeimpfter Flüssigkeit enthält und taucht in dieses ein Thermometer, um einen Anhaltspunkt zu haben, ob und wann die gewünschte Wärme auch in den anderen Röhrchen erreicht ist.

Gewinnung asporogener Kulturen. Vielfach hat man sich bemüht, im besonderen bei Milzbrandmaterial, sporenfreie Bazillen zu erlangen, die ihre Eigenschaft Sporen zu bilden auf Generationen hinaus oder für immer abgelegt haben. Die verschiedenen versuchten Methoden haben das Gemeinsame, daß sie sich chemischer oder physikalischer Mittel bedienen, die längere Zeit und wiederholt schädigend auf die Bazillen einwirken; dabei werden natürlich auch andere Eigenschaften, namentlich die Virulenz beeinträchtigt.

Wärmegrade von 42 bis 43° haben R. Koch, Gaffky und Loeffler bei der Nachprüfung der Versuche von L. Pasteur zur Abschwächung der Milzbrandbazillen behufs Gewinnung von zur Schutzimpfung geeignetem Material verwendet und dabei beobachtet, daß in der Tiefe der Flüssigkeitsschicht die Sporenbildung hintangehalten wurde; sie setzte aber in späteren davon angelegten Kulturen wieder ein (KGA. Mittlg. 2. 147).

Durch länger währenden Einfluß von 42° suchte später C. Phisalix die Sporenbildung dauernd zu unterdrücken. Das gelang ihm von der 12. Generation ab, wenn die Kulturen 2 bis 14 Tage bei 42° gezüchtet, zugleich immer wieder auf Kölbchen überimpft und dann bei 30° gehalten wurden; letzteres war notwendig, weil die Zuchten bei 42° schließlich eingingen. Aber nach dem Durchgang durch die Maus stellte sich die Sporenbildung wieder ein. Erst von der 14. Generation ab fand sie nicht mehr statt, der Stamm hatte zugleich seine Virulenz für Meerschweinchen verloren. Von der 20. Generation ab tötete die endgültig asporogen gewordene Kultur selbst Mäuse nicht mehr (r. C. 13. 533).

Durch chemische, entwicklungshemmende Mittel kann die Sporenbildung ebenfalls beeinträchtigt werden. Vorübergehende Verhinderung erzielte E. v. Behring (ZfH. 6. 127) durch Zusatz von Salzsäure, Silbernitrat, Chinin u. s. w. Dauernd sporenfreie Bazillen gewann E. Roux (AP. 4. 25) durch Zugabe von 2 bis 20 Teilen Phenol zu 10000 Teilen Nährbouillon, wobei die Grenze der Entwicklungshemmung für Milzbrandbazillen erreicht wird. J. Bongert gelangte sicherer und schneller zum Ziel, wenn er nach 8tägiger Züchtung in karbolisierter Bouillon bei 37° an jedem 5. Tage wie Phisalix 2mal in gewöhnliche Bouillon überimpfte (C. 34. 782).

Spontan vorkommende asporogene Milzbrandbazillen hat K. B. Lehmann zufällig in einer jahrelang auf Gelatine fortgezüchteten Kultur gefunden; sie ließen sich nicht mehr in die sporulierende Form zurückverwandeln (MmW. 87. 485).

Digitized by Google

Bewegung der Bakterien.

Je nach vorhandener oder fehlender Beweglichkeit kann man, wie es in der später folgenden schematischen Uebersicht geschehen ist, die Bakterien in 2 Gruppen teilen. Die Feststellung, ob eine bestimmte Art zu der einen oder anderen Gruppe gehört, ist oft leicht, mitunter machen sich jedoch Zweifel geltend.

Richtige **Eigenbewegung** ist nicht zu verkennen, wenn man nur im hängenden Tropfen untersucht, nicht etwa in einer zwischen Objektträger und Deckglas liegenden Schicht, wo durch Strömungen eine Täuschung hervorgerufen wird. Die Art der Bewegung ist verschieden und für manche Arten typisch. Die einen eilen schnell, manche sogar blitzartig durch das Gesichtsfeld hierhin und dorthin, manche schießen nach einigen Augenblicken völliger Ruhe plötzlich vom Orte weg, andere bewegen sich gleichmäßig ruhig, mehr oder weniger langsam, sie schwimmen schlängelnd, wackelnd oder purzelnd dahin, Spirillen und Vibrionen rasch und ausgesprochen schiffsschraubenförmig.

Bei fehlender Eigenbewegung liegen die Bakterien wie leblos, z. B. Milzbrandbazillen, oft aber machen sich bei solchen, denen Bewegungsorgane fehlen, zitternde, selbst drehende und schwankende Bewegungserscheinungen bemerklich.

Diese Brownsche **Molekularbewegung** läßt sich auch an leblosen Dingen, z. B. an einer Aufschwemmung von chinesischer Tusche im hängenden Tropfen wahrnehmen, nur fehlt eben, auch wenn sie noch so lebhaft ist, Fortbewegung auf eine irgend erhebliche Strecke. Derartige Molekularbewegung sieht man bei vielen Bakterienarten, sehr ausgesprochen bei Ruhrbazillen, bei Staphylokokken, bei frisch gebildeten Milzbrandsporen u. s. w.

Vorübergehende Einstellung der Beweglichkeit kommt bei beweglichen Bakterien unter gewissen Ernährungsbedingungen und Wärmeverhältnissen vor. Bei sehr niedrigen Temperaturen erlischt sie durch Kältestarre, bei hohen von 49 bis 55°, manchmal auch schon früher, werden die Geißeln geschädigt, so daß die Bewegung auch nach der Abkühlung nicht wiederkehrt, obwohl die Bakterien selbst noch lebend geblieben sind. Mitunter sind die Temperaturgrenzen für die Beweglichkeit noch enger; so berichteten C. Günther und Th. Mironesco von einem typhusähnlichen Stäbchen, das nur bei 23° und darunter Bewegung zeigte, bei 38° aber nicht mehr und dann auch keine Geißeln mehr hatte (HR. 99. 961). Kossel und Overbeck sahen bei drei Stämmen von Pseudotuberkelbazillen nur bei Zimmerwärme Beweglichkeit, während die bei 37° gehaltenen Kulturen eine solche nicht deutlich erkennen ließen (KGA. Arb. 18. 119). Eine derartige Beobachtung kann man übrigens jederzeit machen, wenn man Stuhl auf Gelatineplatten aussät und von einer der aufgegangenen Kolikolonien eine Probe im hängenden Tropfen untersucht; man wird Eigenbewegung vermissen und sie erst sehen, wenn eine davon angelegte Kultur bei 35° gewachsen ist. In zweifelhaften Fällen muß

Digitized by Google

man also die Kulturen sowohl bei Zimmer-, als auch bei Brütschrankwärme halten und wiederholt untersuchen.

Bei längerer Fortzüchtung in der Sammlung scheinen manche Arten Einbuße an Eigenbewegung und Geißelbildung zu erleiden, wenigstens berichteten K. B. Lehmann und R. O. Neumann das von Micrococcus agilis ruber und citreus (AfH. 34. 119). Ein aus natürlichen Verhältnissen frisch gezüchtetes Kleinwesen darf erst dann unter die unbeweglichen Arten eingereiht werden, wenn es weder in festen noch in flüssigen Nährböden, weder bei niedrigen noch bei höheren Wärmegraden jemals Eigenbewegung erkennen ließ; außerdem ist nicht bloß bei unzweifelhaft beweglichen Bakterien, sondern gerade in jedem Falle von zweifelhafter Eigenbewegung die Färbung auf Geißeln nach einer bewährten Methode zu machen. Um es gleich von vornherein zu betonen, für alle derartigen Fälle ist das Verfahren von E. Zettnow das sicherste und beste.

In zweifelhaften Fällen ist bei Anstellung einer Geißelfärbung unbedingt darauf zu sehen, daß man nicht etwa mit der Aufschwemmungsflüssigkeit Bakterien mit hineinbringt, weil darunter einmal auch geißeltragende sein können, die in jedem, insbesondere auch im destillierten Wasser vorkommen können. Zur Beseitigung von Irrtümern genügt es nicht, das betreffende Wasser bloß zu kochen, denn dabei werden die Bakterien zwar getötet, aber nicht weggeschafft, sondern man muß Wasser in reinen Gefäßen frisch destillieren, was rasch geschehen kann, da man nur wenige Tropfen nötig hat.

Gabritschewski suchte sich außerdem noch mit folgender Anordnung zu helfen: Man legt einen hängenden Tropfen aus Bouillonaufschwemmung der Bakterien an und gibt so viel Gelatine zu, daß ungefähr ein Gehalt von 3 bis 3,5 % entsteht. Der Gelatine sind vorher Karminkörnchen zuzusetzen; sie lassen als totes Material in der erstarrten Gelatine keine Molekularbewegung mehr erkennen, während das bei Bakterien mit aktiver Beweglichkeit der Fall ist (r. C. 33. 465).

Die **Begeißelung** ist für die verschiedenen Bakterienarten verschieden, für manche sogar charakteristisch; die Unterschiede zeigen sich in der Zahl der vorhandenen Geißeln wenigstens bis zu einem gewissen Maße, in der Zahl und Exkursion der Windungen der einzelnen Geißeln, endlich in der Insertion, die entweder an den Polen oder an den Seiten statthat.

Eine Klassifikation der Bakterien nach dem Vorhandensein von Geißeln überhaupt, sowie nach den Besonderheiten ihrer Zahl und Insertion hat A. Messea vorgeschlagen (Jahrber. 6. 575): Zur ersten Sippe der Gymnobacteria würden alle geißellosen Arten gehören; zur zweiten der Trichobacteria alle mit Geißeln ausgestatteten. Je nach der Anzahl und dem Sitze der Geißeln würden diese in verschiedene Unterabteilungen zerfallen, nämlich in:

Monotricha mit einer einzigen Geißel an einem Pol,
Amphitricha mit einer Geißel an jedem Pol,
Leptotricha mit einem Geißelbüschel an einem Pol,
Peritricha mit seitlichen Geißeln.

Digitized by Google

Die Schnelligkeit der Eigenbewegung stellten K. B. Lehmann und E. Fried nach Millimetern in der Sekunde fest und fanden bei:

Vibrio cholerae 0,030	Proteus vulgaris 0,014	Bac. subtilis . . 0,010
Bac. typhi . . 0,018	Bac. tetani . . 0,011	Bac. megatherium 0,0075

Es wurde zu diesem Zweck mit einem Okularmikrometer beobachtet, in welcher Zeit ein Individuum im hängenden Tropfen unter einer gewissen Zahl großer Teilstriche vorbeiglitt. Die Ermittlung der sogenannten praktischen Geschwindigkeit wurde mittels einer wagrecht liegenden Röhre versucht, die mit Nährflüssigkeit gefüllt war und in gewissen Abständen senkrechte Rohransätze trug. Durch den ersten derselben erfolgte die Impfung, durch die anderen alle 1 bis 4 Stunden die Entnahme zur Uebertragung auf Agar. Es ergab sich in der Mehrzahl der Fälle eine Geschwindigkeit von 5 bis 18 μ in der Sekunde, somit weniger als im hängenden Tropfen gesehen worden war; es ist daraus zu schließen, daß die Bakterien nicht geradlinig, sondern auf Umwegen vorrücken (AfH. 46. 311).

Die Darstellung der Geißeln.

R. Koch hat 1877 Geißeln bei einigen Bakterien durch Verwendung von Campecheholzextrakt sichtbar gemacht, später die erste photographische Darstellung der Bewegungsorgane an ungefärbten großen Bazillen (Bac. tremulus) veröffentlicht und damit gezeigt, daß hier die photographische Platte dem Auge überlegen ist. F. Loeffler hat dann 1889 eine auch für schwierige Fälle brauchbare Färbung mit Anilinfarben durch Vorbehandlung mit Beizen zu stande gebracht und als solche erst Eisengallustinte, dann Ferrotannatcampecheholz- und schließlich eine Ferrotannatlösung verwendet, die mit einem Anilinfarbstoff und je nach Bedürfnis mit verschiedenen Mengen Alkali oder Säure versetzt worden war (C. 6. 209 und 7. 625). Im Laufe der Jahre erschienen mehrere Aenderungen, teilweise auch Verbesserungen der Methode von anderen Seiten; fast alle bedienten sich der Tanninbeize, aber anstatt des Eisens mit einem anderen Metall. Zur folgenden Färbung wurden entweder die Anilinfarbstoffe beibehalten oder nach E. van Ermengem durch Silberlösung ersetzt.

Sehr störend waren anfänglich die starken Niederschläge, die die Bakterien und ihre Anhängsel mehr weniger verdeckten und unrein erscheinen ließen. Sie rührten daher, daß nicht bloß die Geißeln, sondern alle übrigen im Präparate enthaltenen Dinge mitgebeizt und so für die Farbstoffaufnahme empfänglich gemacht wurden. Schon Loeffler hat auf die Nachteile der Mitübertragung auch der geringsten Nährbodenbestandteile aufmerksam gemacht, dann erkannte man, daß sich nur skrupulös gereinigte Gläser zur Gewinnung niederschlagsfreier Präparate eigneten, ja daß selbst bei der peinlichsten Reinigung die bloße Berührung der Gläser mit den Fingern auch an einer vom Ausstrich weit entfernten Stelle genügte, um das Präparat zu schädigen oder zu verderben.

In den mit irgend einer Methode gefärbten Ausstrichen sieht man mitunter noch Gebilde, die selbst Geübte irreführten oder wenigstens

Digitized by Google

Zweifel aufkommen ließen, ob Geißeln vorlägen oder nicht. Zu solchen Täuschungen haben dreierlei Dinge Veranlassung gegeben: das Auftreten von kristallinischen Niederschlägen, die Färbung von Schleimfäden oder von dem bei der Ausstreichung verzerrten Ektoplasma (s. S. 182), endlich die zufällige Anlagerung abgerissener Geißeln beweglicher Bakterien an geißelfreie.

Reinigung der Gläser. Deckgläser kocht E. van Ermengem in einer 6proz. Lösung von Kaliumbichromat und Schwefelsäure zu gleichen Teilen aus. Nach A. Hinterberger werden erst 60 g Kaliumbichromat in 1 l Wasser durch Erwärmen gelöst, dann filtriert und nach der Abkühlung 60 g Schwefelsäure hinzugefügt. In diese Lösung bringt man die Deckgläser einzeln und möglichst getrennt voneinander, läßt sie 24 Stunden liegen und kocht dann; sie befinden sich dabei zweckmäßig auf einem Glasrost, der an einem Glasstab befestigt herausgehoben werden kann; dadurch wird auch das Stoßen vermieden. Nach dem Kochen wird die Flüssigkeit unter Drehen des Becherglases ausgegossen, durch neue Lösung ersetzt und abermals gekocht; hierauf sorgfältige Auswaschung mit Leitungswasser, Spülung mit Alkohol und Aufbewahrung in neuem Alkohol. Zum Gebrauch werden die Deckgläser mit einer Pinzette herausgenommen und auf einem heißen Blech vom Alkohol befreit (C. 27. 597; 30. 420; 36. 480).

Objektträger, die A. Peppler ausschließlich verwendet, kocht er in einem irdenen Topf in 4proz. wäßriger Kaliumpermanganatlösung unter öfterem Umrühren mit einem Holzstab 30 Minuten lang. Dann wird der Topf so lange unter die Leitung gestellt, bis das Spülwasser ungefärbt abfließt, und dabei wiederholt umgerührt und geschüttelt. Auf diese Weise können auch alte Objektträger von Immersionsöl und Farbstoffen befreit werden. Hierauf kocht man in demselben Topf die Gläser 30 Minuten mit verdünnter Salzsäure (1 + 4 Wasser) unter dem Abzug aus, und spült wieder, bis das Wasser Lackmuspapier nicht mehr rötet. Nach Beseitigung des Spülwassers folgt Uebergießung mit Alkohol, Ersatz des Alkohols durch frischen, dann Herausnahme der Objektträger mit einer Schmelztiegelzange; sie werden dazu so gefaßt, daß sie zwischen den gespreizten Armen der Zange aufrecht auf der Kante stehen, durch Abbrennen vom Alkohol befreit, der Reihe nach in ein weithalsiges Glasgefäß mit gut schließendem Glasstopfen gelegt, darin aufbewahrt und bei Gebrauch mit einer Pinzette herausgenommen (C. 29. 345).

Die einfachste und ganz sichere Art und Weise ist die von E. Zettnow angegebene: Man reinigt die Deckgläser mit einem in etwas Wasser oder verdünntem Alhohol befeuchteten Tuch und legt sie dann auf ein nicht zu starkes Eisenblech, das durch einen oder zwei untergestellte Brenner etwa 15 Minuten lang kräftig erhitzt wird. Nach dem Erkalten schiebt man die Deckgläser mit einer Nadel an den Rand, faßt sie mit der Cornetschen Pinzette und darf sie nun bis zur Fertigstellung des Präparates nie mehr mit den Fingern berühren.

Die **Anlegung des Präparates.** Wenn es sich um Färbung von bekannten beweglichen Bakterien handelt, untersucht man erst im

Digitized by Google

hängenden Tropfen, ob gute Eigenbewegung vorhanden ist; denn nur dann läßt sich erwarten, daß die meisten Individuen Geißeln haben. Hat man dagegen eine unbekannte Art zu untersuchen, dann muß man auch Kulturen mit scheinbar unbeweglichen Bakterien der Geißelfärbung unterwerfen. Im allgemeinen empfiehlt es sich mit jungen Kulturen zu arbeiten, doch liefern auch Wochen und Monate alte noch positive Ergebnisse. Wie erwähnt, dürfen nicht die geringsten Spuren von Nährmitteln mit ins Präparat kommen. Deshalb ist bei flüssigen Nährböden eine Vorbehandlung erforderlich.

Bouillonkulturen mit bestem Erfolge der Färbung zu unterwerfen, hat E. Zettnow gelehrt. Gerade in Flüssigkeiten können sich die Bewegungsorgane am ungehindertsten entfalten. Bei Aerobiern wie bei Anaerobiern legt man die Kultur in möglichst dünner Schichte in einem Kölbchen mit breitem Boden an. Nach Entwicklung gut beweglicher Keime wird die etwa 10 bis 20 Stunden alte Bouillonkultur vorsichtig von einem etwaigen Bodensatz ab- in einige Kubikzentimeter 4proz. Formaldehydlösung (= 10 % Formalin) gegossen. Bringt man die Flüssigkeit mit den abgetöteten Bakterien in ein Spitzglas, dann setzt sich die Hauptmasse wenigstens bei größeren Bakterien in 1 bis 3 Tagen ab, bei kleineren oder geißelreichen oft erst später; durch Abgießen der trüben Flüssigkeit nach 24 Stunden und Stehenlassen läßt sich eine Scheidung der größeren Fäden von den kleineren Individuen erzielen. Den in der Spitze des Glases befindlichen Bodensatz schwemmt man hierauf mit 1proz. Formalinwasser auf, läßt abermals einen oder mehrere Tage absetzen und wiederholt das Verfahren noch 2mal. In dem Wasser mit 1 % Formalin geht das Absetzen schneller vor sich als in der konzentrierteren Formalinlösung. Beim letzten Male benutzt man bloß steriles Wasser, da sich Flüssigkeiten, die Formalin enthalten, auch auf völlig reinen, durch Erhitzung von allem Fett befreiten Deckgläsern nach dem Ausstreichen gerne wieder zu einem Tröpfchen zusammenziehen. Man kann mehrere Deckgläser im Vorrat bestreichen und durch mäßige Hitze fixiert aufheben. Die nicht benutzte Bakterienmasse hält sich in kleinen Fläschchen in 1proz. Formalinwasser aufbewahrt lange Zeit gebrauchsfähig.

Ausschleuderung der Bakterien würde vielleicht schneller zum Ziele führen, aber sie empfiehlt sich höchstens für Arten mit wenig Geißeln, wie z. B. die Vibrionen; an Bewegungsorganen reiche, d. h. fast alle Sorten mit seitenständigen Geißeln büßen dabei die Hauptmasse ein (ZfH. 30. 95).

Von festen Nährböden und zwar von Platten kann man den Rasen mit Wasser abspülen, die trübe Flüssigkeit mit Formalin versetzen und dann das Absitzverfahren wie mit Bouillonkulturen machen. Am einfachsten ist es, von schräg erstarrtem Agar unter Vermeidung des Kondenswassers oder von nicht verflüssigter Gelatine eine Spur des Rasens mit der Spitze eines geglühten und erkalteten Platindrahtes abzuheben und in eine kleine Menge Leitungswassers zu übertragen. Man bringt auf einen Objektträger ein kleines Tröpfchen Wasser, einige Zentimeter von ihm entfernt einen größeren Tropfen und überträgt zunächst in das kleine so viel Bakterien, daß es deutlich getrübt ist; alsdann gibt man zu dem größeren 1 bis 2 Oesen von einer 2proz. Osmiumsäurelösung und nachher 1 Oese Flüssigkeit aus dem kleinen

Digitized by Google

Tröpfchen, ohne zu verreiben, damit die Geißeln nicht abgerissen werden. Von dieser Flüssigkeit wird eine kleine Oese auf das Deckglas ausgestrichen. Oder man gibt zuerst in ein steriles Reagenzglas etwa 2 Tropfen Leitungswasser, schwemmt darin das Kulturteilchen, ohne viel zu verreiben, auf und setzt dann einen Tropfen einer 1- bis 2proz. Osmiumsäurelösung zu; diese bewirkt, daß die Bakterien augenblicklich abgetötet werden, ohne daß die Geißeln aus der natürlichen Lage geraten. In Fällen fraglicher Begeißelung darf, wie S. 196 dargelegt, nur sicher bakterienfreies Wasser verwendet werden. Die Aufstreichung macht man mit einer kleinsten Platinöse in dünner Schicht auf geglühtem Deckglase.

Wenn, wie beim Pepplerschen Verfahren, Objektträger verwendet werden, bringt man erst auf einen solchen etwas Leitungswasser und läßt darin die Bakterienmasse ohne zu verreiben etwas weichen. Nach einigen Minuten verteilt man sie durch mehrmaliges Hin- und Herfahren mit einer Oese und überträgt mit dieser etwas in einige Tropfen Wasser, auf einen anderen Objektträger. Nun nimmt man einen nicht zu schwachen Platindraht, der nahe der Einschmelzstelle rechtwinklig zum Glasstab gebogen und an seinem Ende mit einer sehr kleinen Oese versehen ist, gibt mit der Oese ein Tröpfchen jener 2. Verdünnung auf die Mitte eines 3. Objektträgers und verteilt mit dem flach aufgelegten Draht durch 2 bis 4 Striche die Flüssigkeit so, daß sie das Glas so ziemlich in seiner ganzen Breite und Länge bedeckt außer dort, wo später die Etiketten aufgeklebt werden.

Die Gläser dürfen, wie schon erwähnt, niemals mit den Fingern angefaßt werden; für Deckgläser hat man die Cornetsche Pinzette, für Objektträger anatomische oder sonst geeignete (s. S. 17). Nach der Fixierung in der Flamme werden Objektträger auf dem Heimschen Färbegestell weiter behandelt.

Die **Beizung** ist der wichtigste Teil bei der Darstellung; ist sie mangelhaft oder ungenügend, dann sieht man die Geißeln schwach oder gar nicht. In solchen Fällen quäle man sich nicht lange mit Versuchen zur Verstärkung der Färbung, sondern nehme ein neues Präparat und beize besser.

Aus den Beizen soll ein allerfeinster Niederschlag die Bakterien und ihre Geißeln durchtränken und sie so zur Aufnahme des Farbstoffes vorbereiten. Jene feinsten Niederschläge entstehen bloß in richtig bereiteten und temperierten Beizen, manche wie die Osmiumsäuretanninbeize von E. van Ermengem scheinen dazu bei jeder Temperatur des Zimmers geeignet zu sein, andere wie die Loefflersche Eisentannin- und insbesondere die Pepplersche Chromsäuretanninbeize müssen dauernd bei etwa 18° stehen, wieder andere wie die Zettnowsche Antimontanninbeize müssen mit dem Präparat stark erwärmt werden, so daß sich der feine Niederschlag erst beim Erkalten bildet; die letztere darf deshalb bei der Bereitung nicht über ein geringes Maß, d. h. höchstens auf 45° erwärmt werden, sonst würde die Wirkung beeinträchtigt werden oder ausbleiben; aus diesem Grunde ist eine einmal verwendete Beize nicht mehr zu gebrauchen.

Nicht jedes Tanninpräparat eignet sich gleich gut. Man nehme nur Acid. tannic. levissimum von einer zuverlässigen Quelle.

Digitized by Google

Nach der Beizung muß gut mit Wasser gespült werden, nicht die Spur von Beize darf am Glase haften bleiben. Am meisten hat man darauf an jenen Stellen zu achten, wo das Glas mit der Pinzette gehalten worden ist. Man braucht darum 2 Pinzetten, damit man nach der ersten Abspülung das Präparat an einer anderen Stelle mit der ganz reinen zweiten Pinzette fassen und die Stelle, wo die erste gefaßt hatte, gründlich nachspülen kann. Ganz besonders ist dies bei den Verfahren zu beachten, die mit Versilberung arbeiten, weil alsbald von den Fassenden, wenn sie nicht ganz rein sind, eine Reduktion des Silbers ausgeht, wodurch nicht mehr zu beseitigende Niederschläge entstehen. Wenn man auf diese Punkte achtet, kann man jede Metallpinzette nehmen und braucht keine besonderen mit Glasspitzen, wie sie von manchen Färbern angegeben wurden.

Zur **Färbung** dient entweder ein Anilinfarbstoff mit Anilinölwasser oder zweckmäßiger Phenolzusatz, z. B. Karbolgentianalösung oder eine Silberlösung, die durch Zusatz eines Entwicklers reduziert wird (van Ermengem) oder eine Ammoniaksilberlösung, die so auf der Kippe steht, daß sich das Silber sofort ausscheidet, wo es Reduktionsmittel findet, also an den Stellen, wo Beize sitzen geblieben ist, was, wie bei der Belegung von Silberspiegeln, durch Erwärmung begünstigt wird.

Einzelne Verfahren zur Geißelfärbung. Von den mancherlei angegebenen sollen hier nur die wichtigeren in ihren Grundzügen wiedergegeben und die brauchbarsten genauer beschrieben werden. Wer sich noch für andere interessiert, findet welche angegeben von Giro de Rossi, C. 33. 572, Th. Bowhill, HR. 98. 11 und 105, Muir, HR. 98. 1221, E. Gemelli, C. 33. 316.

a) Nach **Loeffler:**

Beize: 20proz. Tanninlösung	10 ccm
Ferrosulfatlösung, kalt gesättigt, einige Stunden gestanden	5 „
Wäßrige oder alkoholische Fuchsinlösung	1 „

Der Mischung werden je nach Bedarf einige Tropfen viertelnormaler Natriumhydrat- oder ebensolcher Salzsäurelösung zugesetzt.

Färbung mit folgender frisch bereiteter Lösung: In 10 ccm Anilinölwasser werden einige Kristalle Fuchsin gegeben. Um Schwebefällung zu erzielen, setzt man so lange 1promill. Natronlauge zu, bis die klare Farbstofflösung eben anfängt undurchsichtig zu werden.

Modifikation von R. Bunge (FdM. 12. 462, 653, 929):

Beize: 20proz. Tanninlösung	3 Teile
Verdünnte Eisenchloridlösung 1 : 20 Wasser . . .	1 Teil
Wäßrige Fuchsinlösung zu je 10 Teilen der Mischung	1 ccm

Entweder einige Tage bis zu 3 Wochen stehen lassen oder Beschleunigung der Oxydation durch tropfenweisen Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd, bis charakteristische Rotbraunfärbung auftritt.

Färbung mit Karbolgentianalösung.

Digitized by Google

b) Nach **van Ermengem** mit Abänderungen von W. Kuntze (C. 32. 555) und von A. Hinterberger (C. 27. 597; 30. 417 und 36. 480):

Beize: Es werden zwei getrennte Lösungen vorrätig gehalten:

A. 2proz. wäßrige Osmiumsäurelösung.

B. 10- bis 25proz. wäßrige Tanninlösung.

Bei Gebrauch werden von A 1,5 ccm in ein Röhrchen gegeben, dazu mit einem Schuß von B 3 ccm, geschüttelt und durch ein feuchtes Filter filtriert, dann einige Tage stehen gelassen, bis schwarzviolette Färbung eingetreten ist.

Die Beize 30 Minuten im Schälchen auf das Deckglaspräparat wirken lassen, dann abspülen.

Auf das feuchte Präparat 1proz. alkoholische Silbernitratlösung mehrere Sekunden wirken lassen.

Mit einem Schuß den Entwickler darüber gießen, bestehend aus: Gallussäure 5; Tannin 3; Kal. acet. fus. 10; Aq. dest. 350.

Ablaufen lassen und abermals alkoholische Silbernitratlösung aufgeben; Niederschlag nach 2 bis 3 Sekunden durch weiteren Zusatz von Silbernitratlösung wegschwemmen. Abspülen. Trocknen.

Wenn Niederschläge vorhanden sind, erst einige Tage am Licht liegen lassen, dann klären mit:

Goldchloridlösung 1 : 2000 bis 3000 ganz kurz.

Abspülen. In Wasser untersuchen. Wenn gelungen, in Balsam einbetten.

Von den genannten Methoden wird man wohl mit der letzten am meisten Ergebnisse erzielen. Aber die verhältnismäßig teure Beize ist nicht gleich gebrauchsfertig und kann nicht in Vorrat gehalten werden; das ganze Verfahren ist nicht einfach genug.

Die besten und sichersten Erfolge bietet die Zettnowsche Methode (ZfH. 30. 95); mit ihr lassen sich die Geißeln aller Bakterienarten sicher zur Darstellung bringen; mißlingt sie bei hartnäckigen Arten anfänglich, so versuche man lediglich die Art der Erwärmung bei der Beizung zu verändern. Die Beize ist mühelos in wenigen Minuten herzustellen, sofort brauchbar und hält sich so, bis sie verschimmelt; die Verschimmelung durch Thymolzusatz hintanzuhalten, habe ich nicht für zweckmäßig gefunden, nach einem halben Jahre wirkte sie nicht mehr. Die Herstellung der Silberlösung scheint für den ersten Augenblick langwierig zu sein; man kann sie aber auf Jahre hinaus vorrätig machen oder wenigstens das Silbersulfat unbegrenzt aufbewahren und von Zeit zu Zeit Ammoniaksilberlösung in wenigen Minuten bereiten. Mag die nachstehende Beschreibung das Verfahren umständlich erscheinen lassen, man bekommt bald die nötige Fertigkeit, so daß es sich bequem ausführen und auch leicht in Kursen zeigen läßt.

Das Pepplersche Verfahren ist für Kurszwecke noch geeigneter, weil das Präparat in 5 Minuten fertig ist. Auch hier kann man Beize und Farblösung beliebig lange vorrätig halten, nur muß die erstere ständig bei einer Temperatur stehen, die sich nicht viel unter oder über 18 bis 20° bewegt.

Bei den Vorzügen, die diese beiden Verfahren vor allen anderen voraushaben, seien sie so genau beschrieben, daß jeder, auch der Anfänger, Erfolg haben muß.

Digitized by Google

c) Nach **Zettnow**. Vorbereitung der Kulturen, Reinigung der Deckgläser und Aufstreichung ist bereits S. 198 f. beschrieben.

Beize: A. 5proz. wäßrige Tanninlösung.
B. Brechweinstein 2 : 30 heißen destillierten Wassers.

Lösung A wird auf 40 bis höchstens 45° erwärmt und von B tropfenweise soviel zugesetzt, bis sich der entstehende Niederschlag auch nach einigen Minuten Schüttelns nicht wesentlich verringert. Die Menge von B ist nach der Tanninsorte etwas verschieden; ich brauchte bei Tannin von J. D. Riedel (Berlin) auf je 100 ccm Tanninlösung ungefähr 16 ccm der etwa 6proz. Lösung von Tartarus stibiatus. Die Beize ist sofort brauchbar. Vom nächsten Tag an wird sie stärker opaleszieren.

Aethylamin-Silberlösung.

A. Silbersulfatlösung:

Silbernitrat	5,0
destilliertes Wasser . .	30,0
Natriumsulfat	6,0.

Wenn sich der Niederschlag abgesetzt hat, abgießen. Ersatz der abgegossenen Flüssigkeit durch 20 ccm destillierten Wassers. Umrühren. Einige Minuten absetzen lassen. Diese Waschung 2- bis 3mal wiederholen.

Bodensatz (etwa 4 g betragend) mit 500 ccm destillierten Wassers übergießen, öfters umschütteln, wenigstens eine Stunde absetzen lassen. Von dieser unbegrenzt haltbaren, in braunen Flaschen mit gut schließendem Glasstopfen aufzubewahrenden Lösung wird ohne aufzuschütteln nach Bedarf entnommen.

B. Aethylamin; käufliche, etwa 33proz. Lösung. Anstatt Aethylamin kann man auch Ammoniak nehmen; ich habe keinen Unterschied bemerken können; Zettnow meint, der Niederschlag würde mit Aethylamin feiner.

Die folgende Mischung macht fürs erste vielleicht einige Schwierigkeiten; man bedenke, daß es sich darum handelt, eine Lösung zu bekommen, aus der das Silber sehr leicht ausfällt; darum darf keinesfalls zu viel von dem das Silber in Lösung haltenden Aethylamin (oder Ammoniak) genommen werden, eher darf etwas Niederschlag von Silber vorhanden sein.

Silbersulfatlösung A	25 ccm
Destilliertes Wasser	25 „

Zu dieser Mischung wird soviel Aethylamin oder Ammoniak zugesetzt, bis der anfänglich entstehende braune Niederschlag wieder verschwunden ist. Nun aber muß ein etwaiger Ueberschuß von Aethylamin (Ammoniak) wieder beseitigt werden: Man gibt deshalb so lange tropfenweise Silbersulfatlösung zu, bis sich der entstehende braune Niederschlag nicht mehr rasch, sondern schwerer löst. Ein durch zuviel Silbersulfat wiederum entstandener Niederschlag wird mit einer Spur (Bruchteile eines Tropfens!) Aethylamin oder Ammoniak wieder aufgelöst.

Beizung: Präparate mit der Schichtseite nach unten in ein Blockschälchen legen.

2 bis 3 ccm Beize darüber gießen; Deckel auflegen.

Digitized by Google

Auf einen Einsatz stellen und diesen über Wasser in einen Topf oder in den Dampfapparat setzen und anheizen.

Wenn der Dampf ausströmt, Flamme ablöschen*).

Einsatz mit den Blockschälchen herausheben, Deckplatten abnehmen und etwa 30 Minuten abkühlen lassen, bis die Beize anfängt sich zu trüben.

Deckgläschen aus der Beize mit einer Ehrlichschen Blut- oder einer anatomischen Pinzette herausnehmen und gut abspülen. Dann das Deckglas an einer anderen Ecke mit einer Cornetschen Pinzette, deren Enden ganz rein sein müssen, fassen und abermals mit Wasser spülen. Zum Trocknen aufstellen, so daß das Deckglas auf der Kante steht.

Versilberung. Die Cornetsche Pinzette mit dem trocken gewordenen Deckglas genügend hoch, z. B. auf mein Farbgestell oder auf den Rand eines Dreifußes u. dergl. legen, so daß das Deckglas völlig wagrecht liegt.

Präparat vollkommen mit der Silberlösung bedecken.

Darunter die kleine Zündflamme eines Bunsenbrenners stellen, so daß noch ein größerer Zwischenraum von etwa 10 cm bleibt.

Warten, bis Dämpfe aufsteigen.

Die Färbung ist richtig, wenn die erkennbaren Teile des Ausstriches schwarz (nicht bloß gelb) aussehen.

Wasserspülung. Das Wasser hierauf von der leeren Seite mit Fließpapier wegsaugen. Das Präparat mit der noch nassen Schichtseite auf einen Objektträger legen.

Mit starkem Trockensystem untersuchen.

Wenn die Geißeln deutlich und schwarz (schwarzbraun) erscheinen, Trocknung zwischen Fließpapier und Einschluß in Balsam.

Wenn die Färbung gelb anstatt schwarz ist, kann man es mit nochmaliger Versilberung versuchen oder man macht ein neues Präparat. Dies ist jedenfalls nötig, wenn keine Geißeln vorhanden sind, denn zumeist liegt, wie gesagt, der Fehler nicht an der Versilberung, sondern an der mangelhaften Beizung.

Bei schwach sichtbaren Geißeln hat man noch die Möglichkeit der Verstärkung, bei der allerdings die Geißeln etwas dicker werden.

Sie ist in wenigen Minuten vollendet und die Lösungen dazu lassen sich vorrätig halten, am besten in Tropfflaschchen.

Verstärkung. Vorratslösungen in Tropfflaschchen:

1. Goldlösung: Auri chlorat. neutral. 0,01 in dest. Wasser 20,0.
2. Sodalösung (allenfalls frisch zu bereiten): Kristallsoda 1,0 in 50,0 dest. Wasser.
3. Pyrogallollösung: Pyrogallol 1,0; Alkohol 20,0; Eisessig 2 Tropfen.

*) Zettnow nimmt die Erwärmung auf einer starken, etwa 75 mm dicken gußeisernen Platte von 25 cm im Geviert vor; es wird ein kräftiger Kronenbrenner darunter gestellt und zwar außerhalb der Mitte; man findet dann leicht die passend heiße Stelle und kann mehrere Schälchen zu gleicher Zeit zur Erwärmung aufaufstellen; sie dürfen so heiß werden, daß man sie mit den bloßen Fingern gerade noch anfassen und von der Platte herunternehmen kann. Während der Erwärmung bleiben die Deckel auf den Schälchen, nach dem Herunternehmen von der Platte werden sie abgenommen.

Digitized by Google

Anwendung: Einige Tropfen Goldlösung auf das Deckglas.
Abspülen.
Sodalösung 4 Tropfen, dazu Pyrogallollösung 1 bis 2 Tropfen, durch leichtes Schwenken auf dem Deckglase vermischen.
Bei höchstens gelinder Erwärmung 1 Minute wirken lassen.
Abspülung. Mikroskopierung wie vorhin.
Die Verstärkung kann allenfalls einmal wiederholt werden.

d) Nach **Peppler.** Vorbereitung der Kulturen, Reinigung der Objektträger und Aufstreichung s. S. 198 und 200.

Beize: Tannin 20 g in 80 ccm destilliertem Wasser unter gelinder Erwärmung im Wasserbade lösen und auf etwa 20° abkühlen lassen. Dazu:

15 ccm einer Lösung von 2,5 g schwefelsäurefreier Chromsäure in 100 ccm destillierten Wassers.

Die Mischung 4 bis 6 Tage ruhig bei Zimmerwärme, aber nicht unter 18° stehen lassen; bei kalter Jahreszeit entsprechend weniger lang im Brutschrank bei 20°. Diese Temperatur wird im geheizten Zimmer eingehalten werden können, wenn man die Beize auf dem auf 35° gehaltenen Brutschrank stehen läßt.

Filtrieren durch doppeltes Faltenfilter, wobei stärkere Abkühlung zu vermeiden ist.

Aufbewahrung der Beize bei Zimmerwärme nicht unter 18° in verschlossener Flasche; wenn nötig, vor der Anwendung filtrieren.

Hat sie infolge zu kühler Temperatur zu sehr abgesetzt, so wird sie unfiltriert in den Brutschrank von 20° gestellt, wobei sich der Niederschlag ganz oder teilweise auflöst und die Beize wieder brauchbar wird. Sie darf aber nicht zu lange im Brutschrank stehen, sonst schädigt sie die Geißeln.

Farblösung: Konzentrierte, das ist etwa 5proz. alkoholische Gentianalösung 10,0; Acid. carbol. liquef. 2,5; Aq. dest. bis 100,0.

Die Lösung bleibt einige Tage ruhig stehen und wird dann ohne Aufschütteln filtriert. Man kann auch Fuchsin statt Gentiana nehmen, das gibt besonders reinen Untergrund, färbt aber weniger stark.

Bei der Beizung und Färbung ist jede Erwärmung zu unterlassen!

Das Präparat wird mit der klaren, allenfalls vorher filtrierten Beize ganz bedeckt. Einwirkung 1 bis 5 Minuten.

Wenn das nicht genügt, dann ist die Beize zu schwach und muß durch Aufbewahrung bei 20° wieder korrigiert werden.

Am besten werden gleichzeitig drei Präparate, nebeneinander auf dem Heimschen Färbegestell liegend, gebeizt; das erste 1, das zweite 3, das dritte 5 Minuten lang. Im allgemeinen wird bei 1 bis 2 Minuten das Richtige sein.

Beize abgießen und mit kräftigem Strahl Leitungswasser, das nicht zu kalt sein soll, sehr gut spülen, auch an der Unterseite! Allenfallsige Beizerückstände werden mit einer Gummifahne entfernt.

Spülwasser möglichst gut abfließen lassen.

Mit der Farblösung vollständig bedecken, nachdem sie nötigenfalls vorher filtriert worden ist; 2 Minuten lang.

Ausgiebige Wasserspülung, ebenfalls mit Berücksichtigung der Unterseite.

Will man die Geißeln dunkler gefärbt haben, kann man noch Jodjodkaliumlösung 1 Minute wirken lassen, doch ist diese schwarzviolette Farbe nicht beständig und blaßt rasch ab.

Digitized by Google

Ohne Verzug zwischen Filtrierpapier trocknen und dann mit Oelimmersion untersuchen.

Die Mikroorganismen sind dunkelviolett, die Geißeln und das etwa sichtbare Ektoplasma etwas heller.

Anstatt mit Anilinfarben kann man auch mit Silber färben. Aber „dünne, zarte Bewegungsorgane, die man jedoch gut sehen muß, entsprechen jedenfalls mehr der Wirklichkeit als dickgefärbte, bei denen die feinen Einzelheiten, namentlich die zierlichen Windungen verschwinden, und dicht beieinander liegende, in derselben Richtung verlaufende Geißeln zu einer einzigen verklebt erscheinen" (C. 29. 345).

Auffallende Wuchsformen.

Verzweigungen. Die Bakterien wachsen entweder nach einer oder nach zwei, seltener nach drei Richtungen aus und teilen sich dann quer durch (s. Einteilung der Bakterien). Bei manchen kann man nun noch Y-förmige Gabelungen und kolbige Anschwellungen beobachten; dies hat man als begründeten Anlaß angesehen, sie aus der bisherigen Einteilung herauszunehmen und unter die Hyphomyzeten, speziell die Streptotricheen, einzureihen; insbesondere war dies bei den Tuberkel-, Rotz- und Diphtheriebazillen der Fall; übrigens wurden solche Bildungen bei verschiedenen anderen Bakterien gefunden, so in sehr deutlicher Weise von A. Stolz bei einem von der Urethralmündung gezüchteten Stäbchen (AfH. 30. 156) und von W. Lepeschkin bei dem aus dem Sputum eines an Pneumonie verstorbenen Kranken gewonnenen Bacillus Berestnewi (C. II. 12. 641).

Die Sonderstellung der Tuberkelbazillen und verwandter Arten kennzeichnete K. B. Lehmann durch den von ihm gewählten Namen Mykobakterium. Anderseits wird man z. B. Streptokokken oder Spirillen nicht aus der Klasse der Bakterien deshalb ausschalten wollen, weil sie gelegentlich Verästelungen zeigen. Bei Streptokokken habe ich eine Verästelung photographisch festgehalten, bei der man in richtig ausgefallenen Kopien sehen konnte, wie das färberisch schwer darstellbare Ektoplasma sich gabelig verzweigt und die darin liegenden gut färbbaren Kokkenpaare dann ebenfalls in Y-Form auseinandergehen (Taf. II, Fig. 10). Bei den Spirillen haben Kutscher, sowie E. Zettnow Verzweigungen beschrieben, doch zweifelt H. Reichenbach, ob man diese auch von ihm öfter bei Spirillum rubrum gefundenen Formen als echte Verzweigungen ansehen darf; er meint, bei den Diphtheriebazillen wenigstens würde man diese Gebilde besser als Sprossungen bezeichnen und äußert sich (C. 29. 554) also: „Ebensowenig wie wir jeden knorrigen Auswuchs an einem Baumstamm als Ast bezeichnen, wie wir von einem wirklichen Ast verlangen, daß er Zweige, Blüten hervorbringt, so muß man auch von einer Bakterienverzweigung erwarten, daß sich der neugebildete Ast funktionell als solcher bewährt, daß er weiter wächst, sich wieder teilt und neue Bakterien, eventuell neue Aeste hervorbringt". Vielfach sind Verzweigungen bei gewissen Bakterienarten, namentlich wenn sie unter eigentümlichen Nährbedingungen gezüchtet oder in ihrer Größe und ihrem Aussehen vom Normalen abweichend gesehen wurden, als In-

Digitized by Google

volutionsformen erklärt worden. Dagegen sprechen aber die Wahrnehmungen verschiedener Untersucher, denen zufolge die Gebilde nur in jungen Kulturen und bei reichlich vorhandenen Nährstoffen gefunden wurden.

Involutions- oder **Degenerationsformen** heißt man alle die Gestaltsveränderungen, die von einem natürlichen Aussehen merklich abweichen und einen pathologischen Charakter tragen. A. Maassen führte für sie den Namen teratologische Wuchsformen (von τέρας, Wunder) ein. Sie äußern sich zumeist in auffallender Quellung und Anschwellung der Bakterienleiber im ganzen oder an einzelnen Stellen, die den Farbstoff oft nicht mehr gut aufnehmen und ihre Entstehung Einflüssen der Wärme, der Ernährung, von chemischen Agentien verdanken. Welcher dieser Einflüsse der Anlaß ist, läßt sich nicht in jedem Falle mit Sicherheit erkennen, manche Arten neigen mehr dazu, so sieht man sie in gewöhnlichen Kulturen von Streptokokken häufig als unverhältnismäßig große kugelförmige Anschwellungen, oder bei Friedländerschen und ihnen verwandten Bakterien auf Gelatine in Form von kürzeren oder längeren, ungleichmäßig breiten Scheinfäden, die entweder spitz oder mit kolbiger Anschwellung endigen und den Farbstoff kräftig oder nur schwach annehmen. Bei den Pestbazillen, die auf 3proz. Salzagar, ähnlich wie Bac. lactis aerogenes (Taf. V, Fig. 29), solche sonderlichen Formen bilden, wurden sie zur mikroskopischen Unterscheidung von ähnlichen anderen Bakterien herangezogen.

Neutralsalze beeinflussen, wie zuerst N. Gamaleia gezeigt und A. Maassen (KGA. Arb. 21. 385) weiter ausgeführt hat, die Gestalt in auffallender Weise; Lithium- und Magnesiumchlorid, sowie Lithiumsulfat tun dies schon in geringen Mengen bei verschiedenen Bakterien, mehr bei solchen, die noch nicht an derartige salzhaltige Nährböden gewöhnt sind. Die Wirkung ist teils chemisch, teils physikalisch durch Störung des osmotischen Gleichgewichts.

Aenderungen des osmotischen Druckes führen entweder zur Retraktion der Bakterienleibessubstanz vom Ektoplasma oder, wo eine solche vorhanden, von der Membran, was man als Plasmolyse bezeichnet, oder zum Austritt von Bakterieninhalt aus dem Leibe. A. Fischer hat diese beiden Erscheinungen an verschiedenen Bakterien studiert und im Gegensatz zu der durch Wasserentziehung bedingten Plasmolyse für den durch Ueberdruck in dem Bakterienkörper bedingten Zustand des Austrittes oder Ausgespienwerdens von Inhalt den Namen Plasmoptyse eingeführt (ZfH. 35. 5. und Ber. d. deutschen bot. Ges. 06. 54).

Die chemische Zusammensetzung der Bakterien.

Der Bakterienleib enthält Eiweißstoffe, Fette, Kohlehydrate, Salze und Wasser. Das Bakterieneiweiß erscheint, freilich in geringer Menge, auch auf eiweißfreien Nährböden und steigt nicht proportional mit dem vorhandenen Stickstoffgehalt (E. Cramer AfH. 22. 167); es nimmt bei zunehmendem Traubenzuckergehalt des Substrates ab (R. E. Lyons AfH. 28. 30). Die Eiweißstoffe der Bakterien können nach K. S. Iwanoff

Digitized by Google

(r. HR. 02. 783) als Nukleoproteide angesehen werden. Einen integrierenden Bestandteil der Nukleoproteide, die Pentosen, wies E. Bendix in den Tuberkelbazillen nach (DmW. 01. 18). Von anderen Kohlehydraten, Glykogen, Iogen, sowie von Fett ist Seite 186 die Rede gewesen.

Der Wassergehalt von Choleravibrionen, an denen E. Cramer seine meisten Analysen angestellt hat, betrug 85,60 %, demnach die Trockensubstanz 14,40 %. Ihr Aschegehalt war je nach dem des Nährbodens mehr oder weniger groß, in ascheärmeren betrug er durchschnittlich 9,37 %, in aschereicheren 23,63 %. Die Asche enthielt vorwiegend Natrium, weniger Kalium, Phosphorsäure und Chlor, diese bis zu einem gewissen Grade mehr, wenn der Nährboden mehr davon enthielt, in geringem Maße Schwefelsäure (AfH. 28. 1).

Das spezifische Gewicht der Bakterien.

Zur Bestimmung nahm M. Rubner kleine bis 1 ccm fassende, an den Enden parallel abgeschliffene Röhrchen, deren Rauminhalt mit Hilfe von Quecksilber genau ausgemessen worden war. Dann wurde die Bakterienmasse von der einen Seite aus mit einem Spatel unter Vermeidung von Luftblasen eingestrichen und gewogen. Division des Gewichts durch den Rauminhalt ergibt das spezifische Gewicht (AfH. 11. 384 und HR. 99. 333).

Die Merkmale bei der Züchtung.

Die **Wahl der Nährmittel** entscheidet sich von Fall zu Fall. Sie soll nicht schablonenmäßig geschehen; man wird vielmehr bei Bakterienarten, deren Lebenseigentümlichkeiten verfolgt werden sollen, zu künstlichen Nährmitteln von solcher Zusammensetzung greifen, wie sie den natürlichen Lebensbedingungen am meisten Rechnung tragen.

Haben wir ein Kleinwesen beispielsweise in Kohlrabiaufguß gefunden, so werden wir es, wenn uns an der Herstellung möglichst günstiger Bedingungen gelegen, in Kohlrabiinfus weiter züchten, dem auch gelatinierende Stoffe zugesetzt werden können (jedoch ohne seine Reaktion dadurch zu ändern!). Hühnercholerabakterien wurden z. B. auf Bouillon (mit oder ohne Zusatz von Gelatine oder Agar) aus Hühnerfleisch kultiviert. Derartige Feinheiten sind manchmal sogar unbedingtes Erfordernis gewesen; so bei den Gonokokken, die, entsprechend ihrem ausschließlichen Parasitismus beim Menschen, am besten auf menschlichem Blutserum zur Entwicklung gebracht werden konnten.

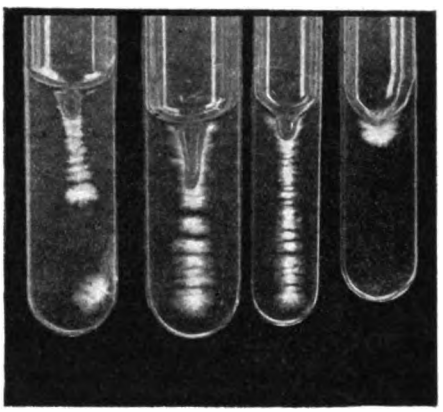
Die **Reaktion** des Nährmittels hat einen entscheidenden Einfluß auf die Entwicklung von Kleinwesen; eine Anzahl — Schimmelpilze, Sproßpilze, gewisse Bakterienarten, z. B. Bac. cyanogenes — verlangen saure Nährböden; während andere, und zwar die meisten Bakterienarten, auf mehr oder weniger alkalischen Substraten die entsprechendsten Bedingungen für ihr Fortkommen finden.

Um das Reaktionsoptimum für eine bestimmte Bakterienart herauszubringen, verfährt man etwa folgendermaßen:

Digitized by Google

Man stellt zunächst eine Nährlösung ohne Zusatz eines Alkalis her; sie steht hinsichtlich ihres Reaktionsgrades auf dem Nullpunkt. Nun wird Normalnatronlauge zugefügt, bis der Lackmusblauneutralpunkt (vergl. S. 81 f.) erreicht ist, der notiert wird, beispielsweise 20 ccm auf 1 l, und dann weiter bis zum Phenolphthaleinneutralpunkt, der wieder aufgeschrieben wird (44 ccm). Nachdem die Behandlung im Dampf und die Filtration vorüber ist, wird die Flüssigkeit in Kölbchen zu je 100 ccm abgefüllt und in jedes eine bestimmte, genau abgestufte Menge, z. B. 0,8, 1,6, 2,4 ccm Normalsalzsäure gegeben. Fig. 188 zeigt vier Röhrchen mit Stichkulturen von Bac. erysipelatos suum gleichen Alters; das erste Glas enthält auf Phenolphthalein neutrale Gelatine, das zweite dieselbe mit Normalsalzsäure 8 ccm zum Liter, das dritte 16 ccm, das vierte 24 ccm im Liter, womit der Lackmusblauneutralpunkt erreicht ist; unter diesem erfolgte überhaupt kein Wachstum mehr, das beste zeigen die Schweinerotlaufbazillen in einer Nährgelatine, die eine „Acidität von 8 ccm“ (zu ergänzen ist: auf 1 l und vom Phenolphthaleinpunkt ab) enthält. Bei Nähragar und -bouillon lassen sich nicht so viele Abstufungen wie bei Gelatine machen, weil die Grenzen zwischen den drei markanten Punkten, Null-, Lackmus-, Phenolphthaleinpunkt weniger weit auseinanderliegen.

Fig. 188.



Will man noch genauere Ergebnisse haben, dann muß man auf Platten aussäen und die gewachsenen Kolonien zählen. Zur Aussaat möglichst gleichmäßiger Mengen schwemmte M. Deeleman (KGA. Arb. 13. 374) eine Oese Agarkultur in 10 ccm Bouillon auf, vermischte 2 ccm der Aufschwemmung mit 100 ccm Peptonwasser und gab davon 1 bis 3 Tropfen aus einer Traubeschen Tropfflasche zu den verschieden alkalisierten Nährböden.

Die **Plattenkultur** (Schalenkultur) bildet, wenn irgend möglich, den Ausgangspunkt für die Untersuchungen, nicht allein weil sie die Trennung der Keime gestattet, sondern vornehmlich wegen ihres Wertes für das Studium der Wachtumseigentümlichkeiten der Bakterien, namentlich bei schwacher Vergrößerung.

Beschreibung der Kolonien. Bei der Untersuchung sind nachstehende Dinge zu berücksichtigen:

I. Vorbemerkungen:
Aussaatmaterial.
Zeit der Aussaat (Stunde, Tag, Monat, Jahr).
Vorherrschende Temperatur während der Entwicklung.
Nummer der Platte.
Stunde und Tag der Untersuchung.

II. Das mit bloßem Auge Sichtbare:
1. Bewachsungsdichtigkeit (ob sehr dicht, gut isoliert oder spärlich stehende Kolonien).
2. Größe: punktförmig, oder, wenn größer, in Millimeter ausgedrückt.
3. Verflüssigung oder Erweichung; ob bloße Mattierung, wie feinste Nadelstiche, oder größere, trichterförmig oder schalenförmig verflüssigende Ansiedlungen.
4. Erhebung über die Oberfläche.
5. Farbe.
6. Schimmelpilze: ob wahrscheinlich Luftverunreinigungen oder, wenn dies auszuschließen, wie viele und von welchem Aussehen.
7. Färbung, Trübung, Aufhellung, Kristallbildung im Nährboden.

Digitized by Google

Hierauf bezeichnet man die Ansiedlungen, die man einer näheren Untersuchung unterwerfen will, an den entsprechenden Stellen auf der Unterseite der Platte mit Tinte oder Farbstift, allenfalls mit Nummern.

III. Die Wahrnehmungen mit dem Mikroskop (bei schwacher Vergrößerung mit enger Blende und Hohlspiegel):

Ist es a) eine oberflächlich liegende, sogenannte aufliegende, oder
b) eine tiefliegende Ansiedlung.

Bei der Beschreibung erinnere man sich an bereits bekannte Kolonien und verweise auf sie, z. B. solche von Staphylokokken, Streptokokken, Kolibakterien, Proteusarten, Heubazillen, Milzbrandbazillen u. a.

1. Ist die Kolonie undurchsichtig oder durchsichtig, ohne oder mit erkennbarer Zeichnung.

2. Beschaffenheit der Mitte:
   a) Farbe (oft anders wie mit bloßem Auge gesehen).
   b) Erkennbare Ausgangsstelle der Kultur, sogenannter Nabel, groß oder klein, Kreis oder Fleck, kuppenförmig oder flach, maulwurfhügelartig abfallend, böllerähnlich vorgetrieben.
   c) Zeichnung: grob oder fein granuliert, mosaikartig, wie aus Glasbröckchen zusammengesetzt, mit regelmäßigen konzentrischen Ringen, schnörkelartig, schlierig, mit vielfach gewundenen, verschlungenen, sich kreuzenden, verwirrten Linien und Fäden, blätterrippenartig (netzläufig); Unruhe, Bewegung der feinsten Teilchen.

3. Beschaffenheit des Randes:
   a) Breite der Randzone.
   b) Durchsichtigkeit, Färbung, Farblosigkeit.
   c) Zeichnung: dieselbe wie im Innern, oder deutlicher oder anders.
   d) Begrenzung: regelmäßig, unregelmäßig, buchtig, gelappt, wellenförmig, scharf, stumpf, zackig, rauh, gezähnelt, strahlig, pelzartig, kurzhaarig, langhaarig, verfilzt, mosaikartig.
   e) Ausläufer: astförmig, gerade, gebogen, schleifenartig, peitschenschnurähnlich.
   f) Saum um die Kolonie: dunkel oder hell (Erweichungs- oder Verflüssigungszone).

4. Größe: Messung mit dem Okularmikrometer (die relativen Werte umrechnen in die absoluten).

IV. Wahrnehmungen bei der Abimpfung:

schleierartig, schwer zu entfernen oder leicht abhebbar, lederartig, derb oder weich, brüchig oder schleimig, fadenziehend oder im ganzen abhebbar. Sonstige Merkmale, eigentümlicher Geruch u. s. w.

Die oft sehr hübsch zu Tage tretende Kristallbildung entsteht in alternden Nährböden; sie scheint nach den Beobachtungen von Nowak und Ciechanowski nicht durch Wasserarmut (Verdunstung) bedingt zu sein, sondern durch andere, noch nicht näher bekannte chemische Veränderungen, die dann unter dem Einfluß der Entwicklung der Kleinwesen in der genannten Weise zum Ausdruck kommen. Etwas Charakteristisches für bestimmte Arten läßt sich daraus nicht ersehen (C. 20. 679). Die Erscheinung tritt aber auch ohne Bakterienentwicklung ein, wenn die Wasserverdunstung, wie dies auf Platten leichter als in Reagenzgläsern geschehen kann, schneller vor sich geht.

Weitere Untersuchungen erfolgen entweder nach Ueberdeckung eines Deckglases mit stärkeren Systemen (vergl. C. Axelrad, ZfH. 44. 477) oder nach Abimpfung mit der Platinnadel (S. 125 f.) im hängenden Tropfen und im gefärbten Präparat.

Klatschpräparate gestatten eine Färbung der Bakterien in ihrer ungefähren natürlichen Lagerung:

Auf irgend eine bei schwacher Vergrößerung ausgesuchte Stelle

Digitized by Google

wird ein wohl gereinigtes Deckglas gelegt und mit der Pinzette oder Platinnadel sanft gegengedrückt. Man kann gleich einen Tropfen Oel draufgeben und die Kolonie in der natürlichen Lage mit starkem System durchmustern (etwas weitere Blende; Planspiegel). Zur Abhebung des Deckglases setzt man dicht an eine seiner Kanten eine Nadel oder die Spitze einer Pinzette, damit es sich beim Aufheben mit der hakenförmig gebogenen Platinnadel oder einer anderen Pinzette, die an der gegenüberliegenden Seite unter den Rand greift, nicht verschieben kann. Das aufgehobene Glas faßt man mit einer Cornetschen Pinzette, läßt lufttrocken werden und zieht es mit der Präparatseite nach oben 3mal durch die Flamme.

Nach gewöhnlicher einmaliger Färbung wird man die meisten Bakterien zu blaß finden, weil die abgehobenen Kulturmassen zu dick gewesen sind. Nur die oberflächlich gelegenen sind gut gefärbt, aber dabei gelockert und durch die folgende Wasserspülung zum Teil weggeschwemmt worden. Man wiederhole deshalb die Färbung und Spülung bei den Klatschpräparaten 2mal. Die Trocknung geschieht zunächst durch Absaugung des Wassers mit Filtrierpapier und dann bei sehr gelinder Wärme vorsichtig über der Sparflamme; denn beim Pressen zwischen zwei Lagen Fließpapier würden die noch feuchten Bakterienverbände leicht auseinandergedrückt werden. Man beachte, daß bei diesem Verfahren viele noch nicht abgetötete Keime weggehen, verbrenne das benutzte Filtrierpapier und sterilisiere die Spülschüssel samt Inhalt im Dampf.

Bei Schimmelpilzen lassen sich weder Ausstriche noch Klatschpräparate fertigen. Man umschneidet die Ansiedlung mit einem Platindraht, hebt sie im ganzen samt dem Nährboden heraus und überträgt sie in 50proz. Alkohol, dem einige Tropfen Ammoniak zugesetzt sind, zerzupft vorsichtig und legt ein Fäserchen in gerade so viel Glyzerin unter das Deckglas, daß nichts davon unter dem Rand hervorquillt. Dann tropft man mit einem brennenden Wachskerzchen an jede Ecke flüssiges Wachs und verteilt es mit einer warmen Sonde so, daß ein schmaler Wachsrahmen entsteht, der das Deckglas am Objektträger festhält; dieser Rahmen kann dann noch mit Asphaltlack überzogen werden.

Die untersuchten und in der feuchten Kammer weiter aufbewahrten Platten zeigen nach wenigen Tagen eine geringere oder größere Menge neuer Kolonien, deren Keime aus der Luft stammen. Man lernt sie zwar bald von den ursprünglich ansässigen wenigstens teilweise unterscheiden, aber für weitere Verwertung taugen die Platten meist nicht mehr. Haben sie ihrem Zwecke gedient, dann werden sie im Dampftopf sterilisiert; das ist sicherer als das Auskochen. Will man dieses machen, so gebe man sie in einen größeren Topf, auf dessen Boden ein durchlochter Einsatz steht, damit die Platten nicht mit dem Boden in Berührung kommen, wo sie leicht zerspringen würden. Dem Wasser setze man etwas Kristallsoda zu und lege dann den Deckel nicht ganz auf, damit die Flüssigkeit nicht überkochen kann.

Reinkulturen in Reagenzgläsern bieten uns weiterhin Gelegenheit, die Wachstumseigentümlichkeiten der Bakterien in größerem Maßstabe zu beobachten. Sie werden von möglichst isolierten Ansiedlungen angelegt (s. S. 126).

Digitized by Google

Die meisten Merkmale machen sich in der Gelatinestichkultur geltend. Leider bleibt die Ausführung bloß auf solche Arten beschränkt, die bei Zimmerwärme zu gedeihen im stande sind.

Die mit dem Wattepfropfen versehenen und bezeichneten Reagenzröhrchen werden an dunklem Ort und bei geeigneter Temperatur (15—23°) aufbewahrt. Um Aufschluß über die Schnelligkeit oder Langsamkeit des Wachstums zu bekommen, müssen anfangs täglich, später alle 2 bis 4 Tage Besichtigungen und, so weit möglich, Messungen vorgenommen und im Protokolle verzeichnet werden.

Bei nicht verflüssigenden Bakterien kommt das Aussehen des Impfstiches selbst — ob zusammenhängend oder unterbrochen, ob das Wachstum auf die Einstichstelle beschränkt bleibt, oder von ihr weiter ins Innere des festen Nährmittels gleichmäßig oder strahlenförmig, borstenförmig u. dergl. sich fortsetzt — in Betracht, ferner ob auch Oberflächenwachstum eintritt, wie weit es sich erstreckt (über die ganze Oberfläche bis zur Glaswand oder weniger weit), ob die Auflagerung dünn, oder dick, kuppen- oder nagelförmig, gleichmäßig rund oder wellig, zackig, strahlenförmig begrenzt, ob von harter, spröder oder weicher, schleimiger, fadenziehender Konsistenz (erst bei wiederholter Abimpfung festzustellen), welche Farbe sich an der Kultur und im Nährsubstrat zeigt.

Bei Kulturen von Bakterien mit peptonisierenden Eigenschaften ist außer der Färbung namentlich die Art der Verflüssigung zu unterscheiden als schalenförmig, trichterförmig mit weiter oder engerer Oeffnung (annähernde Messung der fortschreitenden Zunahme des verflüssigten Bezirkes), ob der Trichter nach unten spitz zuläuft oder stumpf, sackförmig endigt, ob die verflüssigte Gelatine klar oder trüb wird, welche Wolken, Knäuel oder sonst geartete Massen sich am Grunde der Verflüssigung bemerklich machen und ob auf der Oberfläche Häutchen oder dergl. schwimmen. Manche Arten erweichen die Gelatine bloß, ohne sie zu verflüssigen (Schweinerotlaufbazillen u. a.); dann scheint die Gelatine nur trichterförmig eingezogen, was nicht mit Verdunstungserscheinungen verwechselt werden darf. Gärungserreger bilden besonders in zuckerhaltigen Nährmitteln mehr oder weniger reichliche Gasblasen.

Von dem Fortschreiten der Verflüssigungszone und ihrem Aussehen läßt sich durch Beschreibung eine Vorstellung geben, wenn man an verschiedenen Tagen Messungen mit Hilfe eines außen angelegten Millimetermaßstabes macht und die Größe des oberen Querdurchmessers, sowie ihrer Ausdehnung in die Tiefe notiert, z. B.: Verflüssigung: 4. Tag 4×2 mm; 6. Tag 11×6 mm; 14. Tag 16×4 mm; 20. Tag 16×15 mm; zuerst trichterförmig, später parallel zur Oberfläche.

Die Strichkultur auf schräg erstarrtem Nährboden wird bei Gelatine zumeist nur mit nicht verflüssigenden Bakterien angelegt und findet vielfache Anwendung auf Agar und Blutserum. Man kann im unteren Teil des Nährbodens daneben noch eine Stichkultur anlegen. Die strichförmige Aussaat bringt eine viel massigere Ernte, und bei Farbstoffbildnern mit wenigen Ausnahmen (z. B. Spirillum rubrum) wegen des reichlicher vorhandenen Sauerstoffs bessere Pigmenterzeugung.

Digitized by Google

Schnitte durch Stichkulturen lassen erkennen, wie sich die Entwicklung im Innern des Nährbodens vollzogen hat. Die vorgängige Härtung kann auf verschiedene Weise geschehen:

Schnitte durch lebende Kulturen in Agar brachte F. Winkler (FdM. 11. 889) in der Weise zu stande, daß er aus Paraffinblöcken mit der engsten Nummer des Korkbohrers Hohlzylinder, die unten mit einem Stückchen Paraffin verschlossen wurden, ausstach. Der Raum wurde mit nicht zu heißer Nähragarlösung ausgegossen, die entweder schon vorher infiziert war oder erst nach der Erkaltung stichförmig geimpft wurde; bei Anaerobiern folgte noch eine obere Abdichtung mit Paraffin. Nach einiger Zeit wurde der agarhaltige Block unter Alkohol in Schnitte zerlegt. Man darf nicht vergessen, daß danach das Mikrotommesser infiziert ist.

Härtung mit Kaliumbichromat ist von R. Fischl und C. Weigert (Fortschr. d. Med. 5. 663) angegeben und von A. Neisser (C. 3. 506) folgendermaßen abgeändert und gebraucht worden:

Die Nährgelatine mit der Stichkultur wird im Röhrchen leicht angewärmt, so daß der Gelatinezylinder herausgleiten kann. Er wird, je nach seiner Größe und Dicke, für 1 bis 4 bis 8 Tage in eine 1proz. Lösung von Kaliumbichromat gelegt und bleibt darin im Lichte stehen, wodurch eine in Wasser unlösliche Modifikation der Gelatine zu stande kommt. Der Gelatinezylinder, absolut klar und durchsichtig, wird nun tüchtig gewässert, in 70proz., später in 96proz. Spiritus gehärtet und danach in Quer- oder Längsschnitte zerlegt, die mit Gummi oder Glyzeringelatine auf Korke geklebt und in absolutem Alkohol entwässert werden. Ehe man mit dem Mikrotom schneidet, wird die äußerste, sehr harte und feste Schicht abgetragen. Die fertigen Schnitte werden auf dem Objektträger angetrocknet, gefärbt, entfärbt und aufgehellt. Zur Färbung eignet sich alkalische Methylenblaulösung (aber ohne Nachbehandlung mit ½proz. essigsaurem Wasser, nur mit Alkohol), sehr gut auch die Weigertsche und Gramsche Methode. Bei dieser ist die Entfärbung der Gelatine nicht immer durch Alkohol allein möglich, wohl aber, wenn man abwechselnd Nelkenöl und Alkohol auf das Präparat bringt; auch schickt man zur Entfärbung vorteilhaft dem Alkohol eine kurze Einwirkung von Wasser voraus. Zur Aufhellung soll man Bergamottöl verwenden.

Agarkulturen werden ebenfalls durch Erwärmung aus dem Reagenzglas entfernt. Die Härtung gelingt entweder mit Kaliumbichromatlösung, wie bei der Gelatine, oder mit 1- bis 10proz. Salpetersäurelösungen, worauf Wässerung und Einlegung in Alkohol von steigender Stärke folgt. Die einzelnen, nicht zu großen Stücke werden dann nach Biondis Vorgang mit Bergamottöl durchtränkt, kommen in eine Mischung von leicht schmelzbarem Paraffin und Bergamottöl und schließlich in reines Paraffin und für 12 bis 24 Stunden in den Brütofen. Nach der Erkaltung sind die Stücke sehr schön und leicht in feinste Schnitte zu zerlegen, die nun wieder rückwärts erst durch Bergamottöl ihres Paraffins beraubt und wieder in Alkohol gelegt werden. Von hier werden sie wieder auf dem Objektträger angetrocknet und wie die Gelatineschnitte weiter behandelt; ihre Färbung gelingt aber nie so schön, wie bei diesen.

Härtung mit Formalin nach L. Pick (BkW. 00. 1040) und E. Saul (HR. 00. 576): Die Agarkultur wird aus dem Reagenzglas entfernt und durch Querschnitte in 2 bis 4 cm dicke Scheiben zerlegt. Diese kommen auf je 24 Stunden in 10proz. Formalin, 80proz. Alkohol, absoluten Alkohol, Aetheralkohol, dünnes Zelloidin, dickes Zelloidin. Die empfehlenswerte Schnittdicke ist 10 bis 20 μ. Für die Färbung eignet sich entweder einfaches Methylenblau oder das Fuchsinmethylenblaugemisch von Pick und Jacobsohn; damit färben sich die lebenskräftigen Teile der Kolonie blau, die abgestorbenen rot oder violett. Nach der Färbung Abspülung in Wasser und Uebertragung für je 2 Minuten in 80proz. Alkohol, absoluten Alkohol, Xylol, Balsam. Zur differenzierenden Entfärbung nahm Saul später (DmW. 03. 239) Karbolxylol und ließ es so lange wirken, bis die an die Bakterien grenzenden Teile des Nährbodens fast farblos erschienen; danach ist eine Auswaschung mit Xylol erforderlich.

Die **Bouillonkultur** läßt oft nicht unwichtige Unterschiede zwischen den einzelnen Bakterienarten erkennen, die als bezeichnend an-

Digitized by Google

gesehen werden dürfen. Ihre Anlegung muß freilich mit besonderer Vorsicht und die Beurteilung der gewachsenen Kultur mit genügender Skepsis geschehen. Denn stets ist die Möglichkeit vorhanden, daß außer den absichtlich eingesäten Keimen durch Zufall oder Ungeschicklichkeit fremde mit hineingekommen sind. Wer Sicherheit im Arbeiten gewonnen hat, darf sich getrost der Bouillon bedienen, immer aber muß beim geringsten Zweifel an der Reinheit der Kultur die Prüfung mittels des Plattenverfahrens vorgenommen werden. Als bezeichnend sind in einer Kultur anzusehen: Klarheit oder Trübung, Bodensatz, allenfallsiges Oberflächenhäutchen, Auftreten von Gasbläschen.

Klarheit ist dann vorhanden, wenn sich in dieser Beziehung das Aussehen nicht im geringsten von dem der ungeimpften Bouillon unterscheidet.

Trübung kann von den feinsten, kaum wahrnehmbaren Graden bis zur Undurchsichtigkeit reichen und gleichmäßig oder wolkig sein; sie ist je nach den einzelnen Arten verschieden.

Bodensatz bildet sich stets, bei einigen Arten nur in geringem Maße, bei anderen massig mit allen möglichen Uebergängen. Er kann sein: flockig, bröcklig, wie ein Fadengewirr, knäuelartig, wolkig, schleimig, dick oder dünn und von unterschiedlicher Farbe. Beim Umschütteln verteilt er sich entweder rasch und gleichmäßig in der überstehenden Flüssigkeit oder nur in Form kleiner Bröckelchen, schneeflockenartig, oder er steigt als dichte Wolke auf oder als zopfartiges Gebilde, ähnlich der Form einer Wasserhose, und löst sich mehr oder weniger schwer vom Boden ab.

Oberflächenhäutchen ist manchmal nur festzustellen, wenn man das Bouillonröhrchen sehr vorsichtig anfaßt, ohne es zu rütteln; bei anderen Bakterien darf man kräftig schütteln, bis man die Kahmhaut zum Untertauchen oder Sinken bringt; sie kann sein: gleichmäßig oder wellig, glatt oder gerunzelt, dick oder dünn, derb oder zart; manchmal kennzeichnet sie sich lediglich durch einen zarten Ansatz an der Wand des Röhrchens, andere Male schiebt sich von der derberen Haut ein Belag millimeterhoch an der Glaswand empor.

Gasbläschen zeigen sich bei Gärungserregern an der Oberfläche, hauptsächlich am Rande der Flüssigkeit, wenn die Bouillon vergärungsfähige Substanz enthält, etwa das von frischem Fleisch nicht abgetriebener Schlachttiere noch vorhandene Glykogen; gewöhnlich aber macht sich die Gärungserscheinung erst geltend, wenn man der Nährlösung einen Zusatz irgend einer Zuckerart, z. B. Traubenzucker, gegeben hat.

Kartoffeln sind bei der Prüfung des kulturellen Verhaltens einer Bakterienart nicht außer acht zu lassen. Die Art des Wachstums auf ihnen ist mitunter bezeichnend. Typhusbazillen z. B. wachsen auf gewissen Sorten nur als feuchtglänzender Rasen, ohne das Aussehen des Substrats irgend zu ändern; Rotzbazillen machen braunrote Ansiedlungen, ähnliche beobachtet man bei Choleravibrionen. Der Farbstoff chromogener Bakterien erscheint je nach der Kartoffelsorte verschieden. Außer der Sorte hat der Keimungszustand Einfluß auf das Aussehen der Kultur. Man nehme daher bei Vergleichungen verschiedener Bakterienstämme Kartoffeln derselben Sorte und desselben

Digitized by Google

Alters, am besten in Form der sogenannten Parallelkultur, indem man zum Vergleich von zwei Stämmen die beiden Hälften desselben schräg halbierten, ausgestochenen Kartoffelzylinders benutzt.

Gewisse Bakterien bilden dickere oder dünnere saftige, schmierige oder trockene, runzlige Ueberzüge. Letztere entstehen mitunter scheinbar von selbst auf Kartoffelstücken, die bereits eine ½- bis ¾stündige und sogar längere Erhitzung im strömenden Dampf durchgemacht haben. Kartoffelbazillen heißen die widerstandsfähigen Keime, die zu solch einer Erscheinung Anlaß geben. Sie hießen besser Erdebazillen, denn sie verdanken ihre Entwicklung Keimen, die von der Erde her an der Schale hafteten und bei der Durchschneidung der Knollen auf die Kulturfläche kamen.

Auch die Anlegung von Kulturen in sterilisierter **Milch** darf beim Studium der Lebenseigentümlichkeiten von Bakterien (namentlich bei kapseltragenden S. 182) nicht versäumt werden. Es ist hier auf das Eintreten und die Art von Gerinnungserscheinungen das Augenmerk zu richten, ob sie bald und gleichmäßig koaguliert, oder ob sich das Kasein langsam am Boden abscheidet, während darüber klare oder trübe Molken bleiben u. dergl. Für manche Fälle empfiehlt es sich, die Milch durch Zusatz einiger Tropfen von Lackmustinktur blau zu färben, um zu sehen, ob der Farbstoff verschwindet oder sich verändert, und in welcher Reihenfolge diese Farbenunterschiede eintreten.

Andere Nährböden, als die genannten, sind von minderer allgemeiner Wichtigkeit; so die frischen, oder die durchschnittenen gekochten Hühnereier, oder Milchreis, Fleisch-, Reisscheiben etc. oder der Harn; doch werden sie bei besonderen Untersuchungen in ihr Recht treten, namentlich der keimfreie Harn für die in den Urinwegen und in diesem Sekret gefundenen Mikroorganismen.

Fortkommen in verschiedenen Wärmebreiten.

Das den Bakterien überhaupt und ihrem Wachstum günstige Klima bewegt sich, soweit bis jetzt bekannt, zwischen 0 und 74°. J. Forster lieferte an einem Leuchtbakterium und verschiedenen aus Wasser, Milch, Erde, Straßenschmutz erhaltenen Arten, deren Kulturen in einem mit vierfachen Wänden umgebenen Eisraum gehalten wurden, den Nachweis, daß selbst bei 0° Vermehrung der Keime mit Erzeugung von Licht, Farbstoff, Gasen und chemischen Umsetzungen erfolgen kann (C. 12. 431), und B. Fischer (DmW. 93. 398) zuerst an einem für Warmblüter pathogenen Kleinwesen, dem Vibrio Milleri. Diese Beobachtungen haben praktische Bedeutung für die Konservierung von Lebensmitteln, sowie für die Ausführung bakteriologischer Untersuchungen von Wasserproben. Die Eigenschaft der Pestbazillen, bei niedrigen Wärmegraden noch verhältnismäßig gut zu wachsen, hat man dazu benutzt, sie aus einem Gemisch von Fäulnisbakterien durch Züchtung im Eisschrank zu trennen.

Mit steigender Wärme nimmt die Zahl der Bakterien, die ihr Keimungsvermögen zu betätigen vermögen, immer mehr zu und 15 bis 20° bilden bereits eine Grenze, bei der viele ihr „Temperaturopti-

Digitized by Google

mum" haben, so die eigentlichen Wasserbakterien und verschiedene andere, darunter einige bekannte Farbstoffbildner, der Bac. cyanogenes, der unter der begünstigenden Mitwirkung von milchsäuernden Bakterien die in Milchwirtschaften als lästige Eindringlinge vorkommenden himmelblauen Flecken auf der in Satten aufbewahrten Milch erzeugt; er entfaltet seine beste Entwicklung und Farbstoffbildung bei etwa 20°; der Bac. prodigiosus findet die günstigsten Bedingungen bei 22 bis 35° und bildet bei Körperwärme wie Bac. cyanogenes keinen Farbstoff.

Für die Krankheitserreger liegt das Temperaturoptimum bei Körperwärme. Obligate Parasiten, oder wenigstens solche, denen eine hohe parasitische Begabung eigen ist, kommen vielfach unter 30° überhaupt nicht fort, fakultative Parasiten dagegen wachsen auch bei Zimmerwärme, z. B. die Milzbrandbazillen und viele andere. In einer Zwischenstellung befindet sich der anaerobe Bac. botulinus, der bei 18 bis 25° üppig, bei 35 bis 37° dagegen nur spärlich wächst, aber bei seiner Entwicklung auf Nahrungsmitteln oder sonst ihm zusagenden Nährböden ein Gift bildet, das nach Aufnahme seitens der Menschen oder Tiere eine schädliche Wirkung äußert (s. Fleischvergiftungen).

Von 40° an gedeihen weniger Arten, pathogene fangen bei dieser Wärme an, ein kümmerliches, kränkelndes Dasein zu fristen; bei 50° und schon darunter sterben sporenfreie Bakterien in nicht zu langer, oft nur nach Minuten zu bemessender Frist ab. Merkwürdigerweise gibt es noch eine Gruppe, die ihr Optimum überhaupt erst bei dieser hohen Temperatur hat, ja verhältnismäßig nicht wenige Arten wachsen zwischen 50 bis 70° und einige Arten stellen ihre Entwicklung sogar erst bei 74 und 75° ein. Th. Sames unterschied nach dem Vorgange von A. Schillinger (HR. 98. 568) die thermophilen Bakterien, die unter 40° nur kümmerlich gedeihen, von den thermotoleranten, die zwar über 40° noch aushalten, aber ihr Optimum nicht bei dieser Wärme haben (ZfH. 33. 313). Nach K. B. Lehmann kann man eine Einteilung hinsichtlich des Wärmebedürfnisses etwa so aufstellen:

	Bakterien mit dem Minimum bei	Optimum bei	Maximum bei
Psychrophile . . .	0°	15—20°	ca. 30°
Mesophile	10—15°	37°	„ 45°
Thermophile	40—49°	50—55°	60—70°

Zur Ermittlung des **Temperaturoptimums** macht man zunächst einen Orientierungsversuch: Die zu prüfende Reinkultur wird ausgesät auf je zwei Röhrchen mit

schräg erstarrtem, festem Nährboden (Agar; Blutserum);
gerade „ „ „ (Agar);
Nährbouillon.

Je eine dieser Proben wird im Brütschrank bei 35 bis 37°, je eine andere bei Zimmerwärme oder in einem auf 22° eingestellten Brütschrank dunkel gehalten; zu diesen fügt man noch je ein Röhrchen mit gerade und eins mit schräg erstarrter, geimpfter Gelatine. Dann legt man eine Tabelle mit Angaben über Datum, Wärme des Brütschrankes und des Zimmers, Herkunft der Kultur an und ver-

Digitized by Google

vollständigt sie in ein- oder mehrtägigen Zwischenräumen mit den nötigen Aufzeichnungen.

Zur Erforschung der engeren Grenzen sind mehrere, auf bestimmte, verschiedene Wärmegrade genau eingestellte Brütschränke erforderlich, oder — was in heißer Jahreszeit schwieriger — Kästen mit bleibender niedriger Temperatur von 5 bis 10 und 10 bis 15° (in unseren Eisschränken geht sie selten unter 7° herab). Steht ein Eisschrank nicht zur Verfügung, so ist vielleicht kaltes Leitungswasser vorhanden, das einen doppelwandigen Kasten mit ständigem Zu- und Abfluß kühlen kann.

Vermehrungsgeschwindigkeit.

Die **Generationsdauer** wurde von H. Buchner, K. Longard und G. Riedlin folgendermaßen bestimmt (C. 2. 1): Aus einer Bouillonreinkultur wird eine kleine Platinöse voll in 50 ccm keimfreie, 0,6proz. Kochsalzlösung übertragen, tüchtig geschüttelt, aus der Verdünnung 1 ccm mittels steriler Pipette entnommen und in 50 ccm Bouillon übertragen. Daraus werden nun sofort drei primäre Plattenkulturen mit je 1 ccm angelegt, um die Größe der Aussaat zu erfahren; danach wird die Bouillon, die schon vor der Einsaat auf 37° erwärmt worden war, für eine bestimmte Zeit (2 bis 5 Stunden) weiter bei dieser Temperatur belassen, worauf abermals mit je 1 ccm drei sogenannte sekundäre Platten angelegt werden, mit deren Hilfe die bei Schluß des Versuches vorhandene Keimzahl ermittelt wird. Die Auszählung der Kolonien muß unter dem Mikroskop geschehen (s. bei Wasser). Die Berechnung erfolgt mit nachstehenden Formeln:

$$a \cdot 2^n = b; \qquad 2^n = \frac{a}{b}; \qquad n = \frac{\log b - \log a}{\log 2},$$ wobei bedeutet:

a (Aussaat) = Zahl der Kolonien auf den primären Platten im Durchschnitt,

b (Ernte) = Zahl der Kolonien auf den sekundären Platten im Durchschnitt,

n = Zahl der Generationen.

Auf diese Weise wurde unter anderem ermittelt, daß aus 149 Keimen des Choleravibrio bei 37° binnen 3 Stunden 96000 Keime geworden waren, und daß sich das Minimum der Generationsdauer bei diesen Bakterien auf 20 Minuten erstreckte, wobei vorausgesetzt ist, daß bei dem Vermehrungsvorgang aus einer Zelle immer zwei neue, niemals mehr oder weniger hervorgehen.

Wie sich die Keimzahl in weiter wachsenden Kulturen verhält, wo unter dem Einflusse der gebildeten Stoffwechselprodukte ein allmählicher Nachlaß der anfänglichen Wachstumsstärke eintritt, hat M. Ficker durch Bestimmung des Keimgehaltes verschieden alter Kolonien des Bact. coli auf Gelatineplatten ermittelt. Sein Verfahren war folgendes:

Die ausgewählte isoliert liegende Kultur wird mit einem Okularschraubenmikrometer ausgemessen, dann mit einer Platinschaufel umstochen, ausgehoben, in ein Gläschen mit 20 ccm warmer physiologischer

Digitized by Google

Kochsalzlösung übertragen und durch kräftiges Schütteln gründlich verteilt. Durch geeignete Verdünnungen läßt sich dann bald eine Menge zur Aussaat auf Gelatineplatten bringen, in der nur so viele Keime sind, daß sie nach dem Auswachsen leicht unter dem Mikroskop gezählt werden können.

Zur Herstellung der Verdünnungen benutzte Ficker Patenttropffläschchen, deren Tropfengröße durch Eichung bestimmt worden war (Dissert. Leipzig 1895; vergl. S. 121).

Bis dahin waren nur die in einer Kultur vorhandenen entwicklungsfähigen Keime bestimmt worden. Um überhaupt alle in einem bestimmten Zeitraum entstehenden Bakterien zu ermitteln, haben andere Untersucher für solche Zwecke von der Züchtung abgesehen und die Bestimmung der Keimzahl unter dem Mikroskope versucht.

H. Winterberg verwendete die Thoma-Zeißsche Zählkammer, beschickte sie mit einer Aufschwemmung der Kultur in frischem destillierten Wasser in einer möglichst geringen Verdünnung und zählte mit Zeiß DD und Okular IV (ZfH. 29. 75). M. Rubner erzielte mit der Zählkammer bei Hefezellen stets höhere Keimzahlen als mit dem Plattenverfahren, umso höhere, je älter die Kultur war, trug jedoch Bedenken, die auf gewöhnlichen Nährböden nicht angehenden Hefezellen samt und sonders als tot anzusehen. Von 17200 Millionen Zellen, die 1 g Hefe enthielt, gingen vom Ausgangsmaterial auf Agar nur 5705 Millionen auf, nach angelegter junger Kultur aber 16855 Millionen (AfH. 49. 363).

F. H. Hehewerth bediente sich der mikroskopischen Zählungsmethode von Alex. Klein und ermittelte die Generationsdauer bei 37° für

	in Bouillon	in Peptonwasser
Bac. coli . . .	zu 23′ 24″	32′ 50″
Bac. typhi . . .	„ 33′ 24″	45′ 37″

Bei 22° war die Vermehrung etwa 3- bis 4mal weniger schnell als bei 37°. Technik der A. Kleinschen Methode (AfH. 39. 324 und C. 27. 834):

Zu etwa 0,5 bis 1,0 ccm Bouillonkultur oder Aufschwemmung eines Kulturrasens in physiologischer Kochsalzlösung werden genau gleiche Teile Farbstofflösung (Karbolfuchsin oder dergl.) zugesetzt.

Mischen mit der Platinöse und 2 bis 3 Minuten warten.

Nochmals tüchtig umrühren zur gleichmäßigen Verteilung.

Uebertragung einer bestimmten Menge mit geeichter Oese auf runde Deckgläser, die durch Erhitzung (s. S. 198 unten) völlig fettfrei gemacht sein müssen.

Gleichmäßige Verstreichung der Flüssigkeit über das ganze Deckglas unter Verhütung von Verkratzung oder Verstäubung bereits eingetrockneten Materials.

Lufttrocken werden lassen; 1- bis 2mal durch die Flamme ziehen.

Ohne Abspülung in neutralen Kanadabalsam einschließen.

Auszählung von 50 Gesichtsfeldern mit Oelimmersion; sie werden unparteiisch gewählt, ohne daß man dabei ins Mikroskop sieht.

Berechnung ebenso wie bei der Zählung von Kulturplatten (s. bei Wasser).

Digitized by Google

Kraftwechsel und Wärmebildung.

M. Rubner hat durch Wägung, Ermittlung des Wärmewertes des Nährbodens vor und nach der Züchtung, sowie der gewachsenen Bakterien, endlich durch Temperaturbestimmungen während des Wachstums (HR. 03. 857) Messungen vorgenommen. Bei einer 7½ Wochen fortgeführten Kultur eines saprophytischen Bakteriums ergab sich im trockenen Zustande:

Agar vor der Aussaat . . .	19,440 g	× 3,522 Kal.	= 68,47 Kal.
Agar mit Kultur	15,369 „		
Bakterienmasse für sich . . .	1,246 „	× 4,042 „	= 5,04 „
Agar ohne Kultur nach dem Wachstum	14,123 „	× 3,278 „	= 46,30 „
Es fehlten also an Agar . .	4,071 „	und an Kal. 22,17.	

In der Bakterienmasse steckten 5 Kal. an Verbrennungswert und 17,13 Kal. waren für den Kraftwechsel der Bakterien verbraucht worden (AfH. 48. 260).

Wieviel Wärme beim Wachstum der Bakterien gebildet wird, hat Rubner mit Hilfe eines eigens dazu zusammengestellten Kalorimeters nachgewiesen. Die Wärmebildung schritt bei Bakteriengärungen entsprechend dem Wachstum nur langsam weiter, energischer war sie bei der Alkoholgärung durch Hefe und zwar am beträchtlichsten im Anfang; sie begann nach der Besäung der Nährlösung mit der Reinkultur augenblicklich rasch anzusteigen, erreichte bereits in der 8. Stunde ihren Höhepunkt und fiel im Laufe zweier Tage allmählich wieder ab. Die bei der Spaltung von Zucker durch Hefe erzeugte Wärme wurde für 1 g Rohrzucker zu 0,1495 und für 1 Mol. Rohrzucker (= 342 g) zu 51,13 Kal., für 1 Mol. Traubenzucker zu 24,01 Kal. bei CO_2 als Gas ermittelt (AfH. 49. 355).

Farbstoffbildung.

Dieses bezeichnende Merkmal verschiedener Bakterienarten erleidet unter veränderten Ernährungsbedingungen und im Laufe längerer künstlicher Fortzüchtungen nicht selten Einbuße, ja es kann ganz verloren gehen. Fluoreszierende Bakterien bilden ihren Farbstoff bei Abwesenheit von Fleischwasser nicht; daß Zusatz von 0,2% Dikaliumphosphat ihn dann in die Erscheinung treten lassen soll, wie J. Thomann mit Niederkorn (C. II. 6. 796) behauptete, hat H. Mehler, der auf meine Veranlassung Nachprüfungen vornahm, nicht bestätigen können. Bei Bakterien der blauen Milch, die in fortlaufenden Kulturen auf milchfreien Nährböden weniger Farbstoff bilden, gelingt die Wiederherstellung durch wiederholte Uebertragung auf rohe Magermilch oder auf Bouillon, der Milch zugesetzt ist.

Durch Auslese von Kolonien mit schwächerem oder stärkerem oder verändertem Farbstoffbildungsvermögen vermochte R. O. Neumann von mehreren Arten, insbesondere von Staphylococcus pyogenes aureus weiße, gelbe, fleisch- oder orangefarbene Rassen zu gewinnen (AfH. 30. 1).

Digitized by Google

Zum Studium der Farbstoffbildung, deren Erscheinungen nach der Beobachtung im auffallenden und im durchfallenden Lichte zu beurteilen sind, müßten die Farbstoffe getrennt von den Bakterien rein dargestellt werden. Es hat sich aber gezeigt, daß das mit zu den schwierigen Aufgaben gehört; bei dem ziemlich untergeordneten praktischen Wert, den ihre Lösung besitzt, ist man zwar an sie herangetreten, hat sie aber nach den ersten Versuchen meist wieder aufgegeben. Die Bakterien selbst sind mit verschwindend wenigen Ausnahmen (z. B. der Sporen des Bac. erythrosporus) farblos, die Farben entstehen durch Bildung neuer Körper außerhalb des Bakterienleibs, am besten wenn die Züchtung unter Lichtabschluß erfolgt; sehr empfindlich gegen Licht ist Bac. lactis erythrogenes (G. Grotenfelt, FdM. 7. 41). Man kann versuchen, die Farbkörper mit kaltem oder heißem Wasser, verdünntem oder absolutem Alkohol, Amylalkohol, Chloroform, Aether, Petroleumäther, Benzol, Schwefelkohlenstoff u. s. w. in Lösung zu bringen und sie daraus durch Goldchlorid, Platinchlorid, Kaliumquecksilberjodid, Tannin, Sublimat, Phosphormolybdänsäure zu fällen, Reagentien, die C. Gessard mit Erfolg zur Gewinnung des Pyocyaninfarbstoffes anwandte. Verwiesen sei auf K. Thumm, Beiträge zur Biologie der fluoreszierenden Bakterien, Arb. a. d bakt. Inst. Karlsruhe 1. 291; Scheurlen, Ueber Bac. prodigios. (AfH. 26. 23).

Zusatz von Säuren oder Alkalien bleibt entweder ohne Einfluß oder der Farbstoff verschwindet oder er schlägt in einen anderen um. Konzentrierte Schwefelsäure bringt in Kulturen von Staph. pyogenes aur. und besonders von Sarcina aurantiaca eine indigoblaue Färbung hervor, die nach längerer Einwirkung des Reagens in Rotviolett übergeht; H. v. Schrötter fand diese Reaktion von der Annahme ausgehend, daß die leuchtend orangegelbe Farbe der beiden Arten durch einen Lipoxanthinfarbstoff bedingt sein könnte (C. 18. 781). Fixe Alkalien machen blaue Milch rosa (Neelsen; L. Heim, KGA. Arb. 5. 520); Ammoniak aber verändert den Farbstoff nicht, im Gegenteil, es ist, wie H. Scholl (FdM. 7. 807) bewies, für seine Entstehung notwendig. Nach F. Hueppe und Scholl ist diese Farbe ein Salz, dessen Base Ammoniak sein und dessen Säure der Fettreihe angehören muß. Die wichtige Rolle, die das Ammoniak in ähnlichen Fällen, so bei den fluoreszierenden Bakterien spielt, hat A. Hoffa (MmW. 91. 247) gezeigt; er dampfte die mittels Filtration durch Tonzellen keimfrei gemachte Bouillonkultur im Vakuum bei 35° vorsichtig ein und wies zunächst Ammoniak im Destillat nach; aus dem Rückstand gelang es ihm durch wiederholte Fällung mit der 10fachen Menge absoluten Alkohols ein gelbes Pulver zu gewinnen, das dem Briegerschen Reinigungsverfahren unterzogen wurde: es wurde in verdünntem Alkohol gelöst und mit alkoholischer Sublimatlösung versetzt, der Niederschlag mit Wasser angerührt, das Quecksilber mit Schwefelwasserstoff entfernt, filtriert und aus dem Filtrat das Albumin — denn ein Eiweißkörper schien es zu sein — wieder gefällt. Durch mehrfache Auflösung in Wasser und Wiederfällung mit absolutem Alkohol blieb schließlich ein weißlich-graues Pulver. Löste man eine Spur davon in Wasser und setzte zu der Lösung Ammoniak, Natron- oder Kalilauge, dann trat augenblicklich die prachtvollste grüne Fluoreszenz genau so wie in den Reinkulturen in die Erscheinung.

Digitized by Google

Lichterzeugung.

Sie kommt bei Kokken, Bazillen und Spirillen, sowie bei Fadenpilzen vor. Die ersten Züchtungen hat F. Ludwig im Jahre 1885 gemacht, bald nachher isolierte B. Fischer verschiedene Leuchtbakterien aus Meerwasser und J. Forster und Tilanus aus dem leuchtenden Schleim von gebackenen Seezungen. Seitdem sind verschiedene Arten gefunden worden; besondere Beachtung haben die leuchtenden Vibrionen gefunden, weil sie 1892/93 Anlaß zu Verwechslungen mit Choleravibrionen gegeben hatten. Die Lichtentwicklung entsteht nach H. Molisch durch einen innerhalb des Mikroorganismus vorhandenen, hypothetischen Stoff, das Photogen, der bei Gegenwart von freiem Sauerstoff leuchtet.

Das Bakterienlicht ergab bei Micrococcus Pflügeri ein kontinuierliches Spektrum von b bis ins Violett, bei Bact. phosphorescens lag es zwischen 460 und 550 μμ, mit dem hellsten Teil zwischen 480 und 510 μμ. Als die Wirkung des Bakterienlichtes wies M. B. Issatschenko die Bildung von Chlorophyll in Haferkeimen nach (C. II. 10. 497), und H. Molisch sah Heliotropismus bei den diesem Lichte ausgesetzten Keimlingen von Linsen und Wicken. Wiederholt sind die Bakterienkolonien in ihrem eigenen Lichte photographiert worden, wozu sich die das Bild des gestirnten Himmels darbietenden Plattenkulturen oder willkürlich gezogene Impfstriche eignen. R. Dubois hoffte sogar, das kalte Bakterienlicht zur Beleuchtung geschlossener Räume praktisch verwenden zu können, nachdem es ihm gelungen war, so viel Licht zu erzeugen, daß man Gegenstände in der Nähe von großen Kulturflaschen sehen und sogar photographieren konnte (s. Umschau 01. 221 und 818, 03. 212 und 485, 05. 781). A. Lode fand jedoch die Lichtstärke einer Kultur von Vibrio Rumpel nicht größer als 0,785 Hefnerkerzen berechnet auf 1000 qm Kulturfläche (C. 35. 524).

Das Vorkommen von Leuchtbakterien beschränkt sich nicht auf Seefische, grüne Heringe u. s. w.; sowohl Ludwig in Greiz als Molisch in Prag fanden sie auf einer großen Anzahl von Proben von Fleisch- und Wurstwaren, von denen sie auch auf andere Lebensmittel übertragen werden konnten, z. B. auf rohe Eier und Kartoffeln (r. C. II. 14. 418 und 528). In beiden Städten war es der Micrococcus phosphoreus (Cohn), der auch in den aus der Nordsee stammenden Seefischen von Ludwig, wie von Beijerinck nachgewiesen worden war; er soll sich so häufig finden, daß man ihn ohne Schwierigkeit bekommt, wenn man handtellergroße Fleischstücke in 3proz. Kochsalzlösung legt, so daß sie zum Teil aus der Flüssigkeit herausragen, oder wenn man sie nur 15 Minuten darin liegen läßt, dann herausnimmt und in einer mit etwas Kochsalz versehenen Schale einige Tage bei nicht zu hoher Zimmertemperatur aufbewahrt. Das Temperaturoptimum liegt nach Tarchanoffs Untersuchungen an Leuchtbakterien des Baltischen Meeres bei 7° (r. C. II. 9. 293).

Zur Kultivierung der Photobakterien braucht man Lösungen von Koch- oder Meersalz. Man nimmt statt Fleischwasser eine Ab-

Digitized by Google

kochung von zwei Salzheringen in 1 l Wasser, setzt 10 % Gelatine zu und verwendet das Substrat ohne Neutralisierung; man kann auch einen Gelatinenährboden mit Fischabkochung in natürlichem oder in künstlichem, mit 3 % Seesalz bereitetem Meerwasser machen, dem 1 % Pepton, 1 % Glyzerin und ½ % Asparagin zugesetzt werden (Lehmann und Neumann, Bakteriol. S. 50). Eintretende und fortschreitende Fäulnis ist den Leuchtbakterien hinderlich.

Reduzierende und ähnliche Eigenschaften.

Unter den verschiedenen Einflüssen, die die Bakterien auf das ihnen gebotene Substrat ausüben, hat man den reduzierenden Beachtung geschenkt, weil sie sich unter Verwendung geeigneter Indikatoren in sinnfälliger Weise bei den einen mehr, bei den anderen weniger bemerkbar machen, so daß man Unterscheidungsmerkmale gewinnen oder das Vorhandensein von lebenden und sich entwickelnden Mikroorganismen zu einer Zeit wahrnehmbar machen kann, wo mit bloßem Auge noch wenig von ihnen zu sehen ist.

Die Veränderung des Substrats oder einzelner seiner Substanzen läßt sich natürlich vielfach erst durch sekundäre Reaktionen erkennen, z. B. wenn es sich um Verwandlung von Nitraten in Nitrite u. a. m. handelt; sie läßt sich rascher und besser vor Augen führen, wenn man von vornherein einen Indikator zugibt oder das zu reduzierende Mittel selbst als Indikator benutzen kann.

Beide Gesichtspunkte gleichzeitig verfolgte A. Mankowski mit einem Nährboden zur Unterscheidung von Typhus- und Kolibakterien, dem zwei Farbstoffe, Säurefuchsin und Indigokarmin, zugesetzt waren, die an sich durch Reduktionswirkung der betreffenden Bakterien in verschiedener Weise verändert werden, aber auch eine Veränderung in dem Substrate anzeigen sollten, das in seiner Grundlage aus einem Dekokt von eßbaren oder giftigen Pilzen bestand (C. 27. 23). Es kommt darin nicht bloß zu Gärungserscheinungen, sondern auch zu anderen Vorgängen, die sich zum Teil in der Veränderung der Farben ausdrücken. Es gehen hier also verschiedene Reaktionen durcheinander, unter anderem spielt die Verwandlung der Amidoverbindungen der Pilze in Ammoniak eine Rolle; denn, wie ich bei einer Nachprüfung des Verfahrens gefunden habe, es läßt sich das nicht immer zu habende Pilzinfus durch Harn ersetzen, dessen Harnstoff zu Ammoniak verwandelt wird und dann dieselben Farbenerscheinungen hervorruft. Diese Bildung von Ammoniak aus Harn durch Kolibakterien habe ich noch durch eine andere Reaktion deutlich gemacht, die sich wegen der entwicklungshemmenden Eigenschaft des Silbers aber nur unter günstigen Verhältnissen deutlich erhalten läßt: Man gibt frisch dargestelltes Chlorsilber in feiner Verteilung zum Harnnährboden (mit Pepton und Kochsalz); kommt es zur Entwicklung, dann wird durch das gebildete Ammoniak das Chlorsilber gelöst und um die Kolikolonie wird ein großer heller Hof sichtbar.

Reduktionswirkungen auf direktem Wege sichtbar zu machen, gelingt durch Verwendung von Metallverbindungen oder von gewissen Farbstoffen.

Digitized by Google

Metallsalze sind in diesem Sinne von Scheurlen und A. Klett verwendet worden, und zwar Selenite und Tellurite, aus denen durch die Tätigkeit der Bakterien das Metall in feinsten Körnchen abgeschieden wird; auf Nährböden mit Natrium selenosum gewachsene Kolonien wurden dann ziegelrot, bei Gegenwart von tellurigsaurem Natron grauschwarz; die zugegebene Menge betrug 1 Tropfen einer 2proz. Lösung des Metallsalzes auf 10 ccm Nährgelatine oder -agar (ZfH. 33. 135).

Eine ähnliche Metallverbindung benutzte B. Gosio zum Nachweis des vorhandenen Bakterienlebens in der Absicht, bei Heilseris jederzeit erkennen zu können, ob sich nicht eine unerwünschte Bakterienentwicklung in sie eingeschlichen habe. Er gab den Telluriten den Vorzug, und zwar der Kaliumverbindung. Schon eine äußerst geringe Konzentration von 1 Teil Kalium tellurosum in 100000, ja selbst 150000 bis 200000 Teilen Flüssigkeit erwies sich namentlich bei Gegenwart von Zucker als geeignet (ZfH. 51. 65).

Farbstoffe verschiedenster Art sind schon viel früher verwendet worden, sei es daß man den Farbenumschlag oder die Entfärbung oder beides als anzeigend für eine Reduktionswirkung benutzte. Die Entfärbung beruht auf der Bildung eines Leukoproduktes, einer Küpe, die sich unter dem Einflusse der Luft wieder oxydiert, verküpt. Die Erfahrung, daß Indigblau bei Gegenwart von Alkalien durch Reduktionsmittel in Indigweiß (Indigoküpe) verwandelt wird, verwertete zuerst A. Spina (C. 2. 71) und etwa gleichzeitig F. Cahen (ZfH. 2. 386). Dieser Farbstoff ist jedoch, wie A. Wolff darlegte, aus zwei Gründen ungeeignet, einmal kann er vom Nährboden selbst reduziert werden, und dann kann gerade das Gegenteil zu derselben Erscheinung führen: „Während fast alle Farbstoffe durch Reduktion entfärbt werden, indem sie durch Apposition von zwei Wasserstoffatomen ein Leukoprodukt bilden, kann aus indigosulfosaurem Natron auch durch Oxydation ein farbloses Produkt entstehen. Das Vorkommen einer gleichartig aussehenden Oxydations- und Reduktionsstufe läßt die Anwendung des Farbstoffes zu Untersuchungen über Reduktionsfähigkeit als untunlich erscheinen“ (C. 27. 849).

In dem beregten Sinne ist dann Lackmus-, Kermestinktur, ferner eine Reihe von Anilinfarbstoffen verwendet worden, in erster Linie Methylenblau, ferner andere, allein oder in Gemischen, in praktischer Hinsicht zur Erkennung der Typhusbazillen, z. B. das Farbengemisch von E. Noeggerath (C. 3. 481) oder das Neutralrot nach C. J. Rothberger (s. bei Typhus).

Bei allen Beobachtungen über Reduktionen hat man sich durch Kontrollversuche zu überzeugen, ob und inwieweit eine Wirkung des Nährbodens mitspielt, denn Bouillon, Gelatine und am stärksten Agar können allein schon reduzieren, ferner ist der Zutritt des Luftsauerstoffs auszuschalten, der je nach der Anordnung den Versuch mehr oder weniger stark beeinflussen kann. Aus diesen Gründen verlangt A. Wolff, daß erstens die Reduktionsversuche stets in drei Parallelreihen mit Bouillon, Gelatine und Agar angestellt und ungeimpfte, gefärbte Röhrchen jeder Sorte zum Vergleich mitgenommen, und daß zweitens alle geimpften Röhrchen gegen Luftzutritt geschützt werden. Dies geschieht bei festen Nährböden durch Ueberschichtung mit einer

Digitized by Google

2 cm hohen Gelatine- oder Agarsäule und einer weiteren 3 bis 4 cm hohen Schicht von Paraffinum liquidum, das durch Auskochen von Luft frei zu machen ist; bei Bouillon muß man Paraffinum liquidum allein nehmen und bis 5 cm hoch darüber gießen.

Die Frage, ob die reduzierende Wirkung an die Bakterienleiber gebunden ist oder von ihren Stoffwechselprodukten verursacht wird, ist von E. Cathcart und M. Hahn in ersterem Sinne entschieden worden; wahrscheinlich werden die in ihnen enthaltenen enzymartigen Körper auf bestimmte Reize hin abgesondert (MmW. 02. 595 und AfH. 44. 295). Auch A. Maassen wies nach, daß zerriebene Bakterien und Preßsäfte von Schimmel- und Sproßpilzen reduzierend wirken; er ermittelte dies unter anderem durch die Schwefelwasserstoffbildung, die in schwefelhaltigen Substraten nach Zusatz der Leibessubstanz der Bakterien u. s. w. eintrat.

Die Reduktion kommt also nicht, wie man früher annahm, durch naszierenden freien Wasserstoff zu stande, sondern durch die Bildung von Körpern mit labilem Wasserstoff im Bakterienleib. Reduzierende Substanzen sind außer bei Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen bei allen daraufhin untersuchten Pflanzen und Tieren nachgewiesen worden, bei letzteren am reichlichsten in den Zellen der Leber. Diese Leberzellsubstanzen hielten bis zu 10 Minuten das Kochen aus, ohne ihr Reduktionsvermögen zu verlieren; ihre Wirkung ist vielleicht eine fermentartige, vielleicht eine pseudokatalytische, indem sie als Körper mit labilem Wasserstoff Wasserstoffüberträger sind (KGA. Arb. 21. 377).

Der biologische Arsennachweis ist eine praktische Verwertung der Reduktionswirkung. Die von B. Gosio angegebene Methode besteht darin, daß man einen Schimmelpilz — am geeignetsten ist Penicillium brevicaule — auf einen ihm zusagenden Nährboden bringt, dem man die auf Arsen zu prüfende Substanz zugesetzt hat; bei der Entwicklung macht sich, auch wenn nur geringe Spuren von Arsen vorhanden waren, ein deutlicher Geruch nach Knoblauch bemerkbar. Die Untersuchung wird nach R. Abel und P. Buttenberg folgendermaßen ausgeführt (ZfH. 32. 449):

Eine feste Substanz wird möglichst fein gepulvert oder zerschnitten in einen Erlenmeyerschen Kolben von mindestens 100 ccm Rauminhalt gebracht, dazu einige Tage altes Graubrot gesetzt, das mit gut gereinigten (arsenfreien!) Fingern zerkrümelt oder zerrieben ist, und zwar mindestens das gleiche Volum, tüchtig durchgemischt und so viel Wasser aufgegossen, daß das Brot noch nicht vollständig damit gesättigt wird.

Ist das Untersuchungsmaterial eine Flüssigkeit, so fügt man ihr so viel Brotkrümel zu, daß sie von ihnen vollkommen aufgesaugt wird, und daß noch einige Gramm Brot trocken an der Oberfläche liegen bleiben.

Zu Substanzen, von denen eine schädigende Wirkung auf das Pilzwachstum zu befürchten ist, z. B. Mageninhalt, gibt man Brot in sehr reichlicher Menge. In jedem Fall wird zur Kontrolle ein Kolben nur mit Brotkrümeln und Wasser gefüllt. Die mit Watte verschlossenen Kolben werden am besten im Autoklaven sterilisiert.

Digitized by Google

Die Besäung muß reichlich sein: Ein mit sporenreicher Pilzkultur bewachsener Kartoffelkeil wird in einen Kolben mit Bouillon oder steriler Peptonkochsalzlösung oder sterilisiertem Wasser übertragen und darin mit einem sterilen Glasstab möglichst fein zerkleinert. Von der kräftig durchgeschüttelten Pilzaufschwemmung wird in die Brotbreikolben nur so viel gegeben, als vom Brot aufgesaugt werden kann; unter zu großer Feuchtigkeit würde das Pilzwachstum leiden. Dann setzt man die Wattestopfen auf und überzieht sie mit einer dicht schließenden Gummikappe.

Die Züchtung kann bei Zimmerwärme erfolgen, besser geschieht sie bei 37°; sie ist günstigenfalls schon nach 24, stets nach 48 bis 72 Stunden beendigt, dann wird die Gummikappe gelüftet und die durch Wattestopfen noch verschlossene Kolbenmündung an die Nase geführt. Waren bloß kleinere Mengen Arsen vorhanden, so muß man auch den Wattebausch entfernen und direkt in den Kolben hineinriechen. Bemerkt man keinen Geruch, verschließt man den Kolben wieder wie vorher, bebrütet ihn aufs neue und wiederholt die Prüfung von Zeit zu Zeit bis zum 3. oder 4. Tag nach dem Ansetzen.

Der Geruch rührt, wie Biginelli ermittelte, daher, daß die Arsenpilze Diäthylarsin erzeugen. Als Arsenpilze können verschiedene Schimmelpilzarten und auch Bakterien angesehen werden, für die Praxis wird man aber beim Penicillium brevicaule bleiben. A. Maassen stellte fest, daß sich derselbe Geruch wie aus Arsen in tellurhaltigen, ein ähnlicher in selenhaltigen Kulturen entwickelt. Doch wird damit der Wert der Methode von Gosio schon wegen der Seltenheit dieser Metalle nicht beeinträchtigt (KGA. Arb. 18. 475).

Bildung von flüchtigen Stoffen und Gasen.

Die **Atmung der Bakterien** gibt sich nach M. W. Beijerinck bei gewissen beweglichen Arten, z. B. Bac. pyocyaneus, in sogenannten Emulsionsfiguren bei schwacher Vergrößerung zu erkennen, indem in flachen Schichten von Nährlösungen kleine, mitunter zu regelmäßigen Figuren angeordnete Inseln gebildet werden, zwischen denen die mit Kohlensäure gesättigte Flüssigkeit nach oben steigen kann, während innerhalb der bis zum Boden reichenden säulenförmigen Inseln die mit Sauerstoff gesättigte Nährlösung nach unten fällt (C. II. 3. 1). Aerobier nehmen bei ihrem Wachstum nach W. Hesse im wesentlichen Sauerstoff aus der Luft auf und geben dementsprechend Kohlensäure an sie ab, Anaerobier bilden ebenfalls Kohlensäure, den nötigen Sauerstoff spalten sie dagegen aus dem Nährboden ab (ZfH. 15. 17). Denn auch die Anaerobier brauchen wie jedes Lebewesen Sauerstoff, nur muß er ihnen, wie C. Fermi mit E. Bassu erwiesen hat, in einem gewissen Minimum der Spannung zur Verfügung stehen (C. 38. 138).

Die **Bildung flüchtiger Stoffe** läßt sich schon durch einfache Geruchswahrnehmung erkennen; wer ganze Sammlungen von Reinkulturen derselben Art in einem abgeschlossenen Raum zusammenhält und gelegentlich öffnet, wird sich den meist schwer zu beschreibenden Geruch bald merken und ihn dann bei kleineren Mengen wieder er-

Digitized by Google

kennen; kräftiger und eigentümlich widerlich, oft buttersäureartig sind die Gerüche der Anaerobier, die den unter Gasabschluß gehaltenen Kulturen nach der Oeffnung der Gefäße entströmen. Anderseits entstehen bei der Gärung der Weinhefen neben Alkohol Säuren, Aether und Ester, die wegen ihres angenehmen Geschmackes und Geruches geschätzt sind. Unter den Bakterien kennt man weniger Arten, die gut riechende Stoffe bilden, doch gibt es welche, die gewissen Nahrungsmitteln ein eigentümliches Aroma verleihen, so der Butter; A. Maaßen hat außer in Kuhmilch in Wasser, Erde, Darminhalt, Faulflüssigkeit und an Getreide Spaltpilze gefunden, die einen angenehmen Geruch nach Fruchtäther erzeugen, und drei solche Bakterien, sowie einen sporenbildenden Bacillus esterificans beschrieben (KGA. Arb. 15. 500). Einen zu den Askomyzeten zu stellenden Moschuspilz hat S. Kitasato aus Heuinfus gezüchtet, er wurde später von anderen Untersuchern in Wasser und im Lindenschleimfluß gefunden (s. F. Ludwig, C. 10. 214).

Schwefelwasserstoff wird von vielen Bakterien in größerer oder geringerer Menge gebildet (s. M. Rubner, AfH. 16. 53 und 78) und ist im Blut und in den Organen einer Anzahl von rotlaufkranken Schweinen zuerst von R. J. Petri und A. Maaßen auf spektroskopischem Wege nachgewiesen worden. In Kulturen von Bac. erysipelatos suum und verschiedenen anderen Bakterien ließ er sich durch Bleipapier erkennen, das zwischen zwei kleine Wattestopfen der mit Gummikappen verschlossenen Kulturgefäße eingelegt worden war (KGA. Arb. 8. 318). Bei anaerob unter Wasserstoff angelegten Kulturen hat E. v. Hibler den Bleipapierstreifen in dem seitlichen Gaszuleitungsröhrchen untergebracht, das er dazu mit einer kugelförmigen Erweiterung versehen hatte.

Dieser Autor beobachtete ferner bei Verwendung von Gehirnbrei als Nährboden für Anaerobier eine Schwarzfärbung, wenn das betreffende Kleinwesen auf diesem eisenhaltigen Substrate Schwefelwasserstoff und Alkali bildete, was übrigens, wie er fand, einige Arten nicht tun (C. 25. 513).

Festen Nährboden setzte Fromme (Stagnitta-Balistreri, AfH. 16. 10) weinsaures oder essigsaures Eisen zu; M. Morris Bleiacetat im Verhältnis von 1 : 1000 zum Agar für Stichkulturen (AfH. 30. 304); nach M. W. Beijerinck kann man die Ansiedlungen auch auf einer bis zum schneeweißen Aussehen mit Bleiweiß versetzten Gelatineplatte braun werden sehen, insbesondere wenn man die bereits zur Entwicklung gekommenen Kolonien mit einer auf die Gelatine gepreßten Glasplatte bedeckt; das Wachstum bleibt aber aus, wenn Säure gebildet wird, wie dies bei Gegenwart von Zucker vorkommt, weil sich dann lösliche, giftige Bleisalze bilden (C. II. 6. 196).

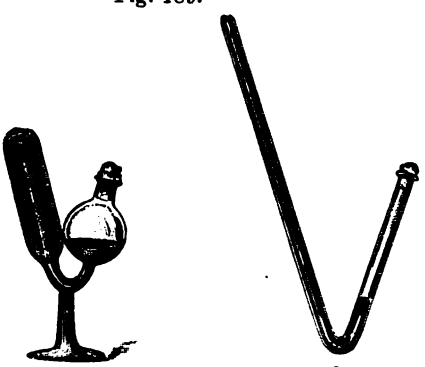
Die zu beobachtende Braunfärbung des Reagens ist nicht ganz eindeutig, denn nach M. Rubner bleibt es unentschieden, ob sie Schwefelwasserstoff oder Merkaptan anzeigt, das regelmäßig bei Fäulnis, von M. Nencki auch in Reinkulturen, nachgewiesen werden konnte (HR. 3. 525). M. Morris prüfte viele Stämme mit Isatinschwefelsäure, die sich mit Merkaptan grün färbt, fand es aber nur bei Proteus vulgaris (AfH. 30. 310).

Digitized by Google

Gasbildung wird sonst am besten im Gärungsröhrchen beobachtet. Sie kommt unter gleichzeitiger Säurebildung bei Vorhandensein von Zucker, auch von Glyzerin zu stande. Die gewöhnliche Bouillon enthält oft Muskelzucker, für Untersuchungen über Gaserzeugung bei Gegenwart anderer Zuckerarten muß sie von dem Fleischzucker befreit werden (s. S. 229).

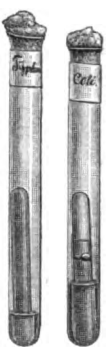
Die Gärungsröhrchen haben gewöhnlich einen engeren und einen weiteren Teil, der, wie von Th. Smith angegeben, so groß sein soll, daß er die ganze Flüssigkeit des geschlossenen Teils aufzunehmen vermag (Fig. 189). Diese Ausbauchung fehlt dem Röhrchen von W. Dunbar, infolgedessen kann bei kräftiger Gärung die bakterienhaltige Flüssigkeit ins Freie gelangen, was den Regeln zuwiderläuft. Es besteht einfach aus einer Glasröhre von etwa 8 mm Dchm. und 30 cm Länge und ist, wie Fig. 189 zeigt, in einem Winkel von etwa 40° gebogen, so daß der geschlossene Schenkel etwa 20 cm lang ist.

Fig. 189.



a b

Fig. 190.



Beim Sterilisieren des gefüllten Röhrchens im Dampf wird der lange Schenkel wagrecht gelegt, damit die Flüssigkeit nicht auskocht (ZfH. 12. 496).

Die Gärungsröhrchen werden so weit gefüllt, daß die Nährlösung nur im langen Schenkel und im Uebergangsteil steht. Nach der Sterilisierung wird die Luft, die sich etwa oben angesammelt hat, durch sanftes Neigen des Kölbchens herausgelockt. Daß wirklich aller Sauerstoff weggegangen ist, davon kann man sich überzeugen, wenn man die Flüssigkeit mit Lackmus gefärbt hat. Während der Sterilisierung verliert sie allmählich die Farbe; nach einigen Tagen kommt sie im offenen Schenkel wieder und geht langsam nach unten in den Uebergangsteil, aber selbst nach langem Stehen nicht in den geschlossenen Schenkel. Strenge Aerobier wachsen nicht im letzteren; wohl aber fakultative Anaerobier, namentlich bewegliche. Die gebildeten Gase sammeln sich in der oberen Kuppe, aber nur zum Teil, ein anderer entweicht durch die Oeffnung; doch scheint dieser Verlust die verschiedenen Gase zugleich, also nur die absolute, nicht die relative Menge zu treffen (Th. Smith, C. 7. 502 und 14. 864).

Die einfachste Anordnung ist die nach H. E. Durham (r. HR. 99. 702). In ein wie gewöhnlich mit 6 bis 8 ccm Zuckerbouillon ge-

Digitized by Google

fülltes Reagenzglas wird ein kleineres, etwa 80 mm langes und 8 mm weites Röhrchen mit der Oeffnung nach unten hineingestellt. Beim wiederholten Sterilisieren im Dampf füllt sich das kleine umgekehrte Reagenzglas vollständig mit Bouillon, ohne daß die Spur einer Luftblase bleibt; geimpft wird in die in der Kuppe des größeren Röhrchens noch befindliche Nährflüssigkeit. Fig. 190 zeigt eine mit Bac. coli und eine mit Bac. typhi besäte Probe; die Colibakterien haben Gas gebildet, die Typhusbazillen nicht.

Zur Sammlung und Analyse größerer Mengen der von Bakterien, auch von anaerobiotischen, gebildeten Gase läßt sich der Apparat nach S. Botkin (ZfH. 11. 421) verwenden, der im Prinzip den Pasteurschen Kolben ähnlich, aus vorhandenen Gebrauchsgegenständen unschwer zusammengestellt werden kann (Fig. 191).

Fig. 191.

Ein Literkolben aus starkem Glase, oben mit einem doppelt durchbohrten (am besten aufgebundenen und mit Paraffin überzogenen) Kautschukstopfen versehen, wird mit Nährlösung gefüllt. Durch die eine Bohrung führt ein langer, bis fast auf den Boden reichender Scheidetrichter, der mit Watte verschlossen ist. Durch die andere geht ein gebogenes Glasrohr, das in einem mit Quetschhahn B versehenen Gummischlauch endigt. Der ganze Apparat, mit Gärflüssigkeit gefüllt, wird bei offenen Hähnen A und B im Dampf sterilisiert, danach werden sogleich beide Hähne geschlossen; der Inhalt des Gefäßes ist nun so gut wie luftleer. Die Impfung erfolgt durch den Scheidetrichter unter vorsichtiger Oeffnung des Hahnes A; sind einige Tropfen der geimpften Flüssigkeit eingeflossen, dann wird der Hahn wieder zugedreht. Wenn bei günstiger Temperatur gezüchtet wird, entsteht bald ein Ueberdruck im Kolben und die gebildeten Gase können durch B nach Belieben abgelassen werden.

Zur Analyse muß man die Gase in geeignete Büretten überführen. Handelt es sich nur um die Bestimmung von Sauerstoff, Kohlensäure, Kohlenoxyd und Stickstoff, reicht die H. Buntesche Gasbürette aus; sollen außer diesen noch andere Gase bestimmt werden, dann nimmt man den W. Hempelschen Apparat. Hinsichtlich ihrer Verwendung sei auf die einschlägigen Lehrbücher und Anleitungen verwiesen, z. B. auf C. Winkler, Lehrbuch der technischen Gasanalyse, Leipzig bei Arthur Felix.

Bildung von Säure und Alkali.

Eine Trennung oder Einteilung der Bakterien in Säure- und Alkalibildner ist nicht angängig, weil die Bildung von Säure und Alkali bei derselben Art vorkommen kann und nur je nach den Verhältnissen dieses oder jene vorwiegt. Alkalibildung vermochte E. v. Sommaruga fast bei allen geprüften Bakterienarten in zuckerfreien Nährböden fest-

Digitized by Google

zustellen (ZfH. 12. 273 und 15. 291); Säurebildung kommt nur bei Anwesenheit von Kohlehydraten (und Glyzerin) vor; bei reichlich vorhandenem Zucker kann durch die aus ihm gebildete Säure die Alkaliproduktion verdeckt oder ganz aufgehoben werden.

Zum Nachweis der gleichzeitigen Entstehung von Säure und Alkali benutzte Th. Smith das mit zuckerhaltiger Nährflüssigkeit gefüllte Gärungsröhrchen (s. S. 227). Die Säure häuft sich im geschlossenen Schenkel an, im offenen, wo die Luft zutreten kann, findet sich alkalische Reaktion; ist der Inhalt ganz alkalisch geworden, ist er es im offenen Schenkel mehr als im geschlossenen.

Nicht alle Bakterien bilden aus jeder Zuckerart Säure; beispielsweise säuert Bac. coli die Milch, während der ihm nahestehende Bac. suipestifer den Milchzucker nicht angreift, wohl aber ebenso wie Bac. coli den Traubenzucker.

Zur Prüfung des Säurebildungsvermögens aus verschiedenen Zuckerarten muß natürlich die Nährlösung von Haus aus vollkommen zuckerfrei sein. Die gewöhnliche Bouillon enthält aber oft noch Fleischzucker. Um sie davon zu befreien, soll der Fleischsaft nach Th. Smith erst einer Gärung unterworfen werden: man versetzt ihn vor der weiteren Verarbeitung mit einer Bouillonkultur von Bac. coli und läßt ihn über Nacht, aber nicht länger als 14 bis 16 Stunden, im Brütschrank stehen; dann ist er mit einer Schaumschicht bedeckt und die Säure erheblich gestiegen. Die Bouillon wird nun wie gewöhnlich durch Kochen, Filtrieren, Zusatz von Pepton und Kochsalz und Neutralisieren zubereitet und nach der Sterilisation, wobei immer einige Gärungskölbchen mitgenommen werden, in diesen durch Einimpfung von Bac. coli auf Zucker geprüft. Wenn nach 24stündigem Aufenthalt im Brütschrank das Wachstum auf den offenen Teil des Röhrchens beschränkt bleibt, ist kein Zucker vorhanden. Tritt im geschlossenen Schenkel etwas Trübung auf, ist eine Spur vorhanden, die aber zu einer makroskopischen Gasbildung oder einer nennenswerten Säureproduktion nicht führen kann. Solche Bouillon ist für die Prüfung auf Gas- und Säurebildung im Gärungskölbchen geeignet (C. 22. 45).

Um ähnliche Bakterienarten, die Kohlehydrate vergären, voneinander zu unterscheiden, hat man mit Hilfe des Polarisationsapparates bestimmt, ob Rechtsmilchsäure oder optisch inaktive Linksmilchsäure vorhanden sei (M. Nencki, C. 9. 305; B. Gosio AfH. 22. 1 u. a.).

Eine rasche Uebersicht, ob Säure oder Alkali gebildet worden ist, läßt sich durch Zusatz von Lackmustinktur zum Nährboden gewinnen, den H. Buchner zuerst gemacht und als unschädlich für die Entwicklung der Bakterien gefunden hat (AfH. 3. 418). Seitdem wird vielfach Gebrauch von ihm gemacht. Nur muß man gute Lackmustinktur haben, die am besten von einer zuverlässigen Fabrik fertig zu beziehen ist. Für bakteriologische Zwecke wird gewöhnlich die Tinktur von C. A. F. Kahlbaum in Berlin empfohlen; E. Czaplewski verwendet trockenen, gereinigten Lackmusfarbstoff, der zu 1 % in destilliertem Wasser gelöst wird. Für bestimmte Zwecke, wenn es sich nur um den Nachweis handelt, ob aus Milchzucker Säure gebildet wird und wieviel, hat J. Petruschky die Lackmusmolke angegeben, die ebenfalls von Kahlbaum bezogen wird (s. S. 75). Seltener wird vom Zusatz von Phenolphthalein zur Erkennung der Bildung tertiärer

Digitized by Google

Phosphate Gebrauch gemacht. Auch dieser Indikator bedingt nach F. Hofmann nicht die geringste Schädigung für das Wachstum der verschiedenartigsten Keime (M. Ficker, C. 27. 592).

Die Menge der erzeugten Säure oder des Alkali wird durch Titration mit $^1/_{10}$, $^1/_{20}$ oder $^1/_{100}$ Normallösung festgestellt, wozu sich natürlich am besten flüssige Nährböden eignen. Man titriert entweder im Röhrchen selbst oder wägt das Röhrchen samt Inhalt, entleert die Kultur in ein Kölbchen mit warmem, völlig neutralem destilliertem Wasser und ermittelt durch Wägung des leeren Röhrchens die Menge der ausgegossenen, zu titrierenden Flüssigkeit. Als Indikator dient Phenolphthalein. Selbstverständlich muß zum Vergleich sterile Nährlösung derselben Herkunft titriert werden.

Kreidenährböden. Eine eigene Methode, die zwar nicht die quantitative Bestimmung der Bildung von Säure und Alkali zuläßt, aber für eine oberflächliche Orientierung geeignet ist und gute Demonstrationsobjekte liefert, ist von M. W. Beijerinck (C. 9. 781) erdacht worden. Einem festen, durchsichtigen, zuckerhaltigen, also vergärungsfähigen Nährboden wird die Durchsichtigkeit durch Zusatz eines neutralen, für die Bakterien unschädlichen kohlensauren Salzes genommen. Wenn die eingesäten (nichtverflüssigenden) Bakterien Säure erzeugen, wird das Salz gelöst und der Nährboden, soweit die Wirkung der Ansiedlung reicht, wieder durchsichtig. Am besten läßt sich dieser Vorgang bei Verwendung des Plattenverfahrens studieren.

Als Nährboden diente bei den gärungstechnischen Arbeiten des Autors eine Hefewasserglukosegelatine, bereitet aus:

Hefeabkochung von 20 g Hefe in 100 ccm Leitungswasser,
Gelatine 8 g (oder Agar 0,75 g),
Glukose 5—10 g (oder eine andere Zuckerart, wie Milch-, Rohrzucker, Maltose, Lävulose, Mannit u. s. w.).

Die Mischung wird sorgfältig neutralisiert und filtriert und erhält vor dem Gebrauch den Zusatz einiger Tropfen einer Aufschwemmung von reiner Kreide in Wasser bis zur gänzlichen Trübung, selbst in einer Schicht, die etwa 1 mm dick ist. Dann wird die Plattenaussaat vorgenommen, am geeignetsten derart, daß man die Nährlösung erst in einer Schale erstarren läßt, und dann das in wenig sterilem Wasser aufgeschwemmte Impfmaterial über die Oberfläche gießt; die dünne Wasserschichte wird vom Nährboden bald eingesaugt und die Keime bleiben isoliert liegen.

Statt Kreide nahm Beijerinck auch Karbonate von Magnesium, Baryum, Strontium, Mangan, Zink u. dergl., von denen sich besonders das Zink eignete; bei strichförmiger Impfung entstanden auf der Oberfläche in der Umgebung der Einsaat elliptische Diffusionsfiguren.

Die Alkalibildung gleichzeitig eingesäter Keime läßt sich nur indirekt erkennen, insofern als eine neben einer säurebildenden Art aufschießende Kolonie die regelmäßigen Grenzen stört, soweit das Wachstum reicht; sät man den Alkalibildner allein aus und zieht nachträglich rechtlinige Impfstriche mit Säurebildnern auf der Oberfläche, dann machen sich infolge der Neutralisierung der Säure durch das Alkali gewisse Formänderungen im durchscheinenden Diffusionsfeld der Säurebildner geltend.

Bildung von Indol.

Indol wird von verschiedenen Bakterien aus Eiweiß oder Pepton gebildet. Gewöhnlich nimmt man Pepton Witte. O. Voges und

Digitized by Google

B. Proskauer haben 8 Präparate geprüft und bei dem von König (Leipzig) die schönste Reaktion erhalten (ZfH. 28. 26; vergl. S. 77).

Die rote Nitrosoindolreaktion. Man bekommt sie in geeigneten Kulturen durch Zusatz von Nitrit und einigen Tropfen Schwefelsäure. Nur muß sich der Nitritzusatz in bestimmten Grenzen halten; nach E. Salkowski soll auf je 10 ccm Kulturflüssigkeit 1 ccm einer 0,02proz. Lösung von Kaliumnitrit genommen werden. S. Kitasato hat eine größere Anzahl von Bakterien also auf ihre Indolbildung geprüft und sie je nach dem positiven oder negativen Ausfall in 2 Gruppen gesichtet (ZfH. 7. 519). R. J. Petri erzielte ähnliche Ergebnisse, wenn er der Nährlösung 0,01 % Nitrat zusetzte, eine reichliche Aussaat machte und den Bakterien Gelegenheit gab, das Nitrit durch Reduktion zu bilden (KGA. Arb. 6. 1).

Die Prüfung auf Indol macht man in der Praxis durch Nitritzugabe zur gewachsenen Kultur. Die Reaktion fällt oft nur schwach aus und kann durch die infolge des Säurezusatzes entstehende bräunliche Färbung vollends verdeckt werden, ja es kann Rosa- oder Rotfärbung auch ohne Anwesenheit von Indol auftreten. Da nach Poehl der von Indol herrührende Farbstoff in Amylalkohol übergeht, die nicht auf Indolbildung beruhenden Farbstoffe dagegen nach A. Maaßen zumeist nicht, empfahl W. Lösener, die Ausschüttlung des Farbstoffes mit Amylalkohol in jedem Falle vorzunehmen (KGA. Arb. 11. 218).

Hinderlich für die Indolbildung ist die Gegenwart von Zucker wegen der aus ihm beim Bakterienwachstum gebildeten Säure. K. Gorini, der zuerst darauf aufmerksam machte, verlangt deshalb die Verwendung von zuckerfreiem Pepton und ebensolcher Bouillon.

Die Ehrlichsche Indolreaktion wird nach A. Böhme (C. 40. 129) mit folgenden haltbaren, von E. Grübler & Co. in Leipzig gebrauchsfertig zu beziehenden Lösungen angestellt:

A. Paradimethylamidobenzaldehyd	4	B. Kaliumpersulfat in gesättigter wäßriger Lösung (als Oxydationsmittel).
96proz. Alkohol	380	
Konz. Salzsäure	80	

Zu 10 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit werden 5 ccm von A und 5 ccm von B gegeben und geschüttelt. Sofort oder längstens binnen 5 Minuten tritt eine intensive Rotfärbung auf. Der rote Farbstoff geht in Amylalkohol über.

Man kann die Reaktion nicht bloß mit Bouillon-, sondern auch mit Agarkulturen anstellen; diese werden mit 96 ccm Alkohol extrahiert; der Auszug wird dann wie geschildert behandelt.

Die Ergebnisse waren bei Typhus- und Kolibazillen dieselben wie bei der Nitrosoindolreaktion, Hühnercholerabazillen dagegen reagierten im Gegensatz zu den bisherigen Erfahrungen hier positiv.

Gleichzeitige Bildung von Indol und salpetriger Säure aus Pepton kommt bei Vibrionen vor. Der Nachweis gelingt dann schon durch Einträuflung von etwa 10 Tropfen konzentrierter reinster (nitritfreier) Schwefelsäure in etwa 6 ccm flüssige Kultur.

Die Reaktion ist zuerst im Jahre 1886 bei Cholerakulturen von Poehl und dann von O. Bujwid nach Salzsäureeingabe gesehen worden. E. K. Dunham rief sie zuerst durch Unterschichtung von

Digitized by Google

Schwefelsäure hervor, stellte die Notwendigkeit der Gegenwart von Peptonen in den Nährmitteln fest und empfahl die jetzt noch als geeignetst geltende wäßrige Peptonlösung (1% mit 0,5% Kochsalz) als Züchtungsmittel für Choleravibrionen zur Erzielung einer möglichst kräftigen Reaktion. E. Salkowski hat sie nachher als Indolreaktion erkannt (Virch. Archiv 110. 366).

Die in den Kulturen des von N. Gamaleia bei einer Geflügelepizootie gefundenen Vibrio Metschnikowi erscheinende Nitrosoindolreaktion zeichnet sich durch einen Stich ins Gelbliche aus, während sie bei den Choleravibrionen einen tieferen, bläulichen, selbst violetten Ton hat. In der Tat hat L. Brieger außer dem „Cholerarot" noch ein „Cholerablau" isoliert. Diese Abtrennung gelang nach Behandlung mit Schwefelsäure und Natronlauge, Ausschüttlung mit Aether, Verjagung desselben, Entfernung des Rots mit Benzol und Wiederlösung des Blau in Aether (BkW. 87. 818).

Mitunter gelingt die Reaktion nicht oder nur schwach; dies wurde bei ganz frisch aus dem Körper gezüchteten, meist aber bei alten Laboratoriumsstämmen beobachtet. Wenn die Bouillon und das Pepton zuckerfrei und gut sind, liegt das an den Eigentümlichkeiten der betreffenden Kulturen.

Enzyme.

Eiweißspaltende Enzyme. Trypsin. Die Verflüssigung der Gelatine, die einem Teil der Kleinwesen eigen ist, beruht auf der Absonderung eines leimlösenden, proteolytischen, peptonisierenden Enzyms. Unter H. Buchners Leitung hat es H. Bitter zuerst und zwar von Choleravibrionen durch Erwärmung auf 60° getrennt, wobei die Vibrionen absterben, das Enzym aber eben noch erhalten bleibt (AfH. 5. 241). Die immerhin schädigende Wirkung der Wärme läßt sich durch Filtration umgehen.

Zum Nachweis von tryptischen Enzymen eignet sich die Gelatine besser, als es die weniger empfindlichen Würfel von Fibrin oder gekochtem Eiweiß tun, die man früher verwendete. C. Fermi, der sie zuerst (AfH. 12. 240) dazu vorschlug, nahm 5- bis 10proz. wäßrige Lösung, versetzte sie mit 3% Thymol oder Phenol und ließ sie in schmalen, graduierten Reagenzgläsern gerade erstarren. Nach Aufgeben einer bestimmten Menge der zu prüfenden, in bestimmten Abstufungen verdünnten Flüssigkeit (feste Teilchen werden besser auf schräggestellten Gelatineplatten geprüft) sieht man zu, wie weit die Erweichung der Gelatine innerhalb einer bestimmten Zeit in die Tiefe fortschreitet. Um die Abgrenzung des noch festen von dem bereits verflüssigten Teile besser sichtbar zu machen, kann man vorher oben auf die Gelatine etwas Tierkohle streuen (zu viel ist nachteilig).

Lab wird neben Trypsin nicht selten von verflüssigenden Bakterien erzeugt. H. W. Conn erkannte, daß nach der Einsaat solcher Bakterien in sterile Milch der Käsestoff nicht durch Säurebildung, sondern durch ein labähnliches Enzym niedergeschlagen wurde, und daß im Zimmer wachsende Kulturen mehr Lab, im Brütschrank gezüchtete mehr proteolytisches Enzym lieferten; über seine Versuche zur Trennung beider Enzyme s. C. 12. 223. Durch eine auffallende Hitze-

Digitized by Google

beständigkeit zeichnet sich nach H. Conradi und H. Vogt das von Bac. proteus fluorescens erzeugte Labenzym aus: Wenn man eine 5tägige, bei 20° gehaltene Gelatinekultur 10 Minuten lang auf 100° erhitzte, dann 0,5 ccm davon zu 2 ccm Milch setzte, trat bei 40° nach Zusatz eines Tropfens einer 5proz. Chlorcalciumlösung nach 7 Minuten feste Gerinnung der Milch ein, wie bei einer nicht erhitzten Kultur; nach 15 bis 20 Minuten langer Erhitzung auf 100° gerann die Milch unter gleichen Verhältnissen noch binnen 10 Minuten, nach halbstündiger Erhitzung binnen 50 Minuten (ZfH. 37. 288). Das Labferment des Bac. prodigiosus wird durch halbstündige Erhitzung auf 100° zerstört (K. Gorini, HR. 93. 381).

Fettspaltende Enzyme (Lipase) sind in vielen in der Butter und sonstigen fetthaltigen Stoffen, im Kanalwasser, im Boden vorkommenden Kleinwesen zu suchen. Bei Schimmelpilzen findet man die Fettverzehrung häufiger als bei Bakterien (O. Rahn, C. II. 15. 53). Aus einem in Gartenerde vergrabenen Stück Butter hat K. Schreiber (AfH. 41. 328) eine Anzahl gezüchtet und einen Bac. fluorescens liquefaciens, ein schleimbildendes Bakterium und Schimmelpilze als fettzersetzend, zum Teil fettzehrend gefunden. Die Fettzersetzung kann nur bei Gegenwart von Sauerstoff und bei organischer Stickstoffnahrung, manchmal auch bei Ammoniaknahrung (O. Rahn) erfolgen. Ein Enzym ist bis jetzt noch nicht isoliert worden.

Kohlehydratspaltende Enzyme (Diastase) sind bei verschiedenen Bakterien und Schimmelpilzen beobachtet worden, so von C. Fermi (AfH. 10. 1 und C. 12. 713), E. Cavazzani (C. 13. 587), W. Pfeffer (r. C. II. 3. 425). Getrennt von den Bakterien wiesen Lauder Brunton und Macfadyen (r. C. 8. 203) das diastatische Enzym dadurch nach, daß sie Kulturen mit 1% Chloroform behandelten, bis die Keime abgetötet waren, und das Gemisch zu frischer Stärke zusetzten, die dann vollständig in Zucker oder, wenn das Kleinwesen nur mit geringerem Fermentierungsvermögen begabt war, in Dextrin verwandelt wurde (s. auch Zymase).

Invertierende Enzyme werden namentlich von Hefen gebildet und wandeln Rohr-, Milchzucker, Maltose in Glykose, Dextrose, Lävulose, Galaktose um; s. unter anderen C. Fermi und G. Montesano (C. II. 1. 482).

Urease. Von anderen vorkommenden Enzymen sei noch desjenigen der Zersetzung des Harnstoffs gedacht. Von Harnbakterien, speziell Micrococcus ureae wollte Muskulus ein wasserlösliches, wirksames Enzym abgetrennt haben, das die Hydratisierung des Harnstoffs, d. h. seine Zerlegung in kohlensaures Ammoniak unter Wassereinlagerung bewirkt. Seit den Untersuchungen von W. O. v. Leube und E. Graser und späteren Autoren weiß man, daß die Fähigkeit der Harnstoffzersetzung vielen Bakterien zukommt; Miquel hatte mit der Isolierung des Ferments Erfolg.

Zymase. E. Buchner zeigte im Jahre 1897, daß sich Alkoholgärung auch ohne Hefezellen erzielen lasse, wenn man den ausgepreßten

Digitized by Google

keimfreien Saft frisch oder im Vakuum bei 35° getrocknet oder nach der Trocknung bis 100° erhitzt der gärfähigen Zuckerlösung zusetzte (r. C. II. Bd. 3 und 4). Ihre Wirkung entfaltet sich auch nach Zusatz von Chloroform oder anderen antiseptischen Stoffen. Die Art der Gewinnung der Zymase, die sich auch auf Bakterien anwenden läßt, kann folgendermaßen geschehen:

1000 g für die Darstellung von Preßhefe gereinigte Bierhefe werden mit dem gleichen Gewicht Quarzsand und 250 g Kieselgur sorgfältig gemengt und zerrieben, bis die feuchte Masse plastisch geworden ist. Man setzt dem Teig 100 g und später nochmal die gleiche Menge Wasser zu und bringt ihn in der hydraulischen Presse allmählich unter einen Druck von 400 bis 500 Atmosphären. Aus 1 kg Hefe gewinnt man 500 ccm Preßsaft, die gegen 300 ccm Zellsubstanzen enthalten (C. II. 3. 251).

Die Anwendung einer hydraulischen Presse läßt sich nach Albert umgehen, wenn man die Hefe entweder in Alkoholäther einträgt, oder, was weniger schädigend wirkt und bessere Ergebnisse liefert, in Aceton. Frische, ausgewaschene Brauereiunterhefe wird bei einem Druck von 15 bis 30 kg auf 1 qcm entwässert. 500 g davon, zu einem groben Pulver (zwischen den Händen, wie vorgeschrieben, wäre bei Bakterien unzulässig) zerrieben, werden auf einem Sieb (10 Maschen auf 1 qcm) in einer flachen Schale in 3 l Aceton eingetaucht und durch Heben und Senken des Siebes in der Flüssigkeit unter Nachhilfe mit einem Bürstchen in 3 bis 4 Minuten durch die engen Maschen geschwemmt. Die Hefe bleibt unter häufigem Umrühren noch 10 Minuten im Aceton liegen; nach Abgießen und Absaugen der Flüssigkeit auf gehärtetem Filter in einer Nutsche werden die grob zerkleinerten Hefekuchen abermals mit 1 l Aceton übergossen, 2 Minuten umgerührt und dann durch abermalige Absaugung unter Andrücken mit einem geeigneten Stempel an das Filter von der Flüssigkeit wieder befreit. Die Masse wird dann grob gepulvert, mit 250 g Aether übergossen und die Wirkung durch Kneten unterstützt. Nach 3 Minuten wird der Aether auf der Nutsche unter kräftiger Absaugung abfiltriert, die zu einem feinen Pulver verriebene Hefe durch ein mittelfeines Sieb geschlagen, dann in dünner Schicht auf Filtrierpapier ausgebreitet, mit dem Papier auf eine Hürde gelegt und diese für ½ bis 1 Stunde an der Luft liegen gelassen, hierauf dem Trockenschrank, der auf 45° erwärmt ist, übergeben und 24 Stunden darin gehalten. Das Präparat ist dann fertig (R. Albert, E. Buchner und R. Rapp, Ber. d. D. chem. Ges. 35. 2376; r. C. II. 9. 571).

In der auf diese Weise hergestellten Dauerhefe finden sich, wie R. und W. Albert gezeigt haben, verschiedene Enzyme: die Zymase, ferner ein diastatisches, Glykogen hydrolysierendes Enzym; beide diffundieren in wäßriger Lösung nicht aus der Dauerhefezelle heraus, sie sind nicht diffusibel und können aus der getrockneten Hefe ohne Zerstörung der Zellwand nicht extrahiert werden; außerdem kräftig wirkende proteolytische Enzyme; diese wandern in wäßriger Aufschwemmung der Dauerhefe mit den Eiweißkörpern aus der Zelle heraus und entfalten dann außerhalb ihre Wirkung weiter; sie sind es, die die Wirkungsdauer der Zymase beschränken; die Veränderungen, die die Hefezelle unter ihrem Einflusse erleidet, lassen sich mit der Gramschen Färbung gut darstellen; endlich die leicht diffusible Invertase, die bald in der wäßrigen Aufschwemmung oder im Filtrate nachweisbar ist.

Für Bakterien wurde dieses Acetonverfahren von M. Hahn und E. Cathcart (MmW. 02. 496), sowie von A. Maaßen angewendet, von letzterem in der Weise, daß die in großen Schalen gewachsenen Rasen mit Aceton behandelt, im Vakuum schnell getrocknet, dann mit sterilem Wasser etwas angefeuchtet und zur Freilegung der Zellbestandteile im sterilen Mörser mit Hilfe von reinem Quarzsand mehrere Minuten kräftig zerrieben wurden (KGA. Arb. 21. 378).

Digitized by Google

Bakteriolytische Enzyme (Nukleasen) haben R. Emmerich und O. Löw aus älteren Kulturen verschiedener pathogener Bakterien, z. B. des Bac. pyocyaneus bereitet. Anstatt Bouillon wird eiweißfreier Nährboden genommen, nach der Impfung 5 bis 6 Wochen gezüchtet, dann mehrmals täglich energisch umgeschüttelt, 24 Stunden stehen gelassen und die überstehende Flüssigkeit vorsichtig, ohne vom Bodensatz etwas mitzubekommen, im Vakuum abgesaugt, die Flüssigkeit durch Kieselgurfilter von den lebenden Keimen befreit, im Vakuum bei 20 bis 36° auf $^1/_{10}$ ihres Volums oder noch weiter eingeengt und 12 bis 24 Stunden dialysiert, wobei mit den Salzen die giftigen Stoffe weggehen. Sollten im Tierversuch trotzdem noch Gifte nachweisbar sein, dann gibt man 0,25 bis 0,30 % Trikresol zu und läßt weiter bis einige Wochen stehen, worauf der Rest des Giftes verschwunden sein wird. Um das Enzym trocken zu erhalten, setzt man 2 bis 5 % Dextrin zu, gießt die Lösung in die 10fache Menge starken Alkohols, gießt ab und entfernt die Reste des Alkohols vom Bodensatz durch Absaugung auf einer Nutsche und Trocknung im Vakuum über Schwefelsäure. Die trockene Substanz wird im Exsikkator aufbewahrt und zur Verwendung in sterilem Wasser gelöst.

Da man bei der Benennung die Enzyme durch die angehängte Endsilbe „ase" kenntlich macht, werden diese Stoffe Nukleasen genannt, im besonderen Pyocyanase, Erysipelase, Typhase, Cholerase u. s. w.

Die Pyocyanase wirkt gegenüber Bakterien tötend und auflösend, gegenüber (Thymol-)Gelatine und Eiweiß peptonisierend; aus Wasserstoffsuperoxyd wird energisch Sauerstoff entwickelt. Lösen diese Enzyme nur die Bakterien, von denen sie stammen, heißen sie konformbakteriolytische, vermögen sie auch andere Arten zu vernichten und aufzulösen, heteroform-bakteriolytische Enzyme. Die Nukleasen sollen sich bei Anwendung von Alkali mit den Eiweißkörpern des Blutes und der Organe verbinden und dann immunisierend und heilend bei verschiedenen Infektionskrankheiten wirken. Den durch Zusammentreten von Nuklease und Körpereiweiß entstehenden Stoff heißen Emmerich und Löw Nuklease-Immunproteidin, bezw. Pyocyanase- u. s. w. Immunproteidin. Den Zusammentritt kann man auch außerhalb des Körpers im Glase vor sich gehen lassen und erhält dann künstlich die heilenden Stoffe. Man nimmt z. B. 3 bis 5 g keimfrei gewonnene, frische, zerriebene Tiermilz, setzt 0,3 % kohlensaures Kali und 100 ccm Nuklease, z. B. Pyocyanase, zu, worauf die Milzteile verschleimen, sich zusammenballen und schließlich teilweise aufgelöst werden. Man digeriert 6 bis 8 Stunden, entfernt das nicht gelöste Milzgewebe, gibt 1 bis 10 % Dextrin zu und gießt das Ganze in die 10fache Menge starken Alkohols. Der vom Alkohol durch Abgießen und Absaugen befreite Bodensatz wird im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet und dient zur Immunisierung, bezw. zur Behandlung der Infektionskrankheiten (ZfH. 31. 1; s. ferner C. 30. 552 und 31. 1).

Hämolysine.

Unter Hämolysinbildung versteht man die Eigenschaft filtrierter Kulturen, den Blutfarbstoff aus den roten Blutkörperchen herauszulösen und die Deckfarbe des Blutes in die Lackfarbe zu verwandeln.

Digitized by Google

Auf geimpften Blutplatten sieht man nicht selten die gewachsenen Ansiedlungen von einem mehr oder minder großen hellen Hofe umgeben, in dessen Bereich der rote Blutfarbstoff ganz oder teilweise verschwunden ist. Nicht bloß die verschiedenen Bakterienarten verhalten sich dabei verschieden, sondern die Erscheinung tritt nicht einmal bei allen Kolonien derselben Art auf. Man hat sie ebenfalls als Hämolysinwirkung bezeichnet, aber nicht ganz mit Recht. Denn wenn man die Bakterien, bei denen man Derartiges auf der Blutplatte bemerkt, in flüssigen Nährböden von geeigneter Alkaleszenz züchtet und nach einer bestimmten Anzahl von Tagen, etwa nach einer Woche, eine Filtration vornimmt, wird man durchaus nicht immer Hämolysinwirkung bekommen. Beispielsweise haben die Cholerakolonien die Eigenschaft, auf Blutplatten helle Höfe zu bilden, wie R. Koch schon bei der Entdeckung des Choleraerregers gesehen hat (BkW. 84. 498), aber dem Filtrat der Bouillonkulturen geht jegliche Hämolysinwirkung ab (Meinicke, ZfH. 50. 165).

Nachdem R. Kraus im Jahre 1900 die Hämolysinwirkung im Filtrat von Staphylokokken festgestellt hatte, haben sie M. Neißer und F. Wechsberg als Hilfsmittel zur Erkennung der Pathogenität von Staphylokokken und zur Unterscheidung von ähnlichen Stämmen benutzt (ZfH. 36. 299). Die von ihnen ausgearbeitete Methode wurde für spätere Untersucher maßgebend:

Die Staphylokokkenkultur soll in Bouillon, die mit Alkali bis zu $^1/_3$ bis $^1/_2$ der für die Erreichung des Phenolphthaleinpunktes nötigen Menge versetzt ist, gezüchtet und 9 bis 14 Tage im Brütschrank gehalten werden. Danach wird filtriert und das keimfreie Filtrat, wie folgt, weiter verarbeitet, wozu man 7 bis 9 kleine Reagenzröhrchen und 4 Pipetten nötig hat: In je ein Röhrchen gibt man von der

unverdünnten Flüssigkeit	0,5 ccm	0,25 ccm	0,10 ccm
Verdünnung 1 : 10	0,5 „	0,25 „	0,10 „
Verdünnung 1 : 100	0,5 „	(0,25) „	(0,10) „

Die eingeklammerten Proben können wegfallen. Jedes Röhrchen wird mit 0,85proz. Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt.

Dazu wird je 1 Tropfen gut gewaschenen, defibrinierten Kaninchenblutes gegeben; durch das Waschen (mit Hilfe der Zentrifuge) sollen die Blutkörperchen von Serumresten befreit werden, die eine antihämolytische Wirkung äußern könnten.

Die Röhrchen bleiben erst 2 Stunden im Brütschrank bei 37°, dann läßt man sie über Nacht im Eisschrank oder wenigstens in einem kühlen Raume stehen. Die Abstufungen, die man nun in der blutauflösenden Wirkung bemerken kann, wurden also bezeichnet:

Lc (besser Lv) = Lösung komplett (besser vollständig): beim Schütteln sind keinerlei körperliche Bestandteile mehr zu erkennen;

fast vollständig: es sind nur geringe Stromareste vorhanden;

unvollständig: es ist ein deutlich zusammenhängender Bodensatz vorhanden; ferner:

ganz rot; starke Kuppe; Kuppe; Spur;

0 = es ist keine Spur Lösung mehr vorhanden.

Digitized by Google

Das Staphylokokkenfiltrat kann als Testflüssigkeit aufgehoben werden; man setzt zu diesem Zweck auf 100 ccm Filtrat 5 ccm einer Lösung von 10 Phenol, 20 Glyzerin, 70 Wasser zu.

Die Hämolysine werden durch 20 Minuten lange Erwärmung auf 56° zerstört.

Für den Nachweis einer Hämolysinbildung bei Vibrionen soll man nach Meinicke in Bouillon, die mit 2,3 g Soda aufs Liter über den Lackmuspunkt alkalisiert ist, 2 bis 7 Tage züchten. Ueber die auf Grund der Ergebnisse gemachte Sichtung der choleraähnlichen Vibrionen s. bei Cholera.

Alkaloide und ähnliche Stoffe.

Schon in der vorbakteriologischen Zeit ist man an die Untersuchung chemischer, unter der Einwirkung von Fäulnis entstandener hitzebeständiger Stoffe gegangen. Selmi fand basische, stickstoffhaltige Körper in faulenden Leichen, sogenannte Ptomaine (πτῶμα = Leichnam), Panum wies zuerst auf das Vorkommen giftiger Fäulnisbasen hin und Nencki ermittelte an einem von ihm aus faulender Gelatine gewonnenen Alkaloide die Elementarzusammensetzung als eine mit Collidin isomere Verbindung. Eigener Darstellungsmethoden bedienten sich Stas-Otto, Dragendorff und nachher Brieger, insbesondere auf dem Gebiete der bakteriellen Produkte. Da sie aber in der Krankheits- und Immunitätsforschung nicht zu dem gehofften Ziele führten, werden sie in der Bakteriologie jetzt kaum mehr angewendet.

Der leitende Gedanke bei jenen Methoden ist der, daß die Alkaloide auf Säurezugabe saure Salze bilden, die in Wasser und Weingeist löslich, in Aether aber, ebenso wie die neutralen Salze, unlöslich sind; wenn dann die wäßrige Lösung der sauren Salze alkalisch gemacht wird, werden die Alkaloide in Freiheit gesetzt und gehen nunmehr beim Ausschütteln mit Aether oder Amylalkohol oder Benzol in diese Flüssigkeiten über.

Die Ausschüttlung geschieht im Scheidetrichter (Fig. 46, S. 24), aus dem man die wäßrige Flüssigkeit nach dem Absetzen unten ablaufen läßt. Von dem Aether oder einer anderen leicht verdunstenden Flüssigkeit, die man zur Aufnahme des Alkaloids benutzt hat, gibt man erst einige Tropfen zur Probe auf ein Uhrschälchen und prüft den nach der Verdunstung bleibenden Rückstand mit allgemeinen Reagentien auf Alkaloide, wie Patin-, Gold-, Quecksilber-, Eisenchloridlösung, Neßlers Reagens, Jodjodkalium, Gerbsäure, Pikrinsäure oder anderen. Wenn mehr Material gewonnen wird, verarbeitet man es chemisch weiter und ermittelt schließlich die Kristallform, den Schmelzpunkt und die Elementarzusammensetzung.

Leibessubstanzen der Bakterien.

Die Bakterien enthalten in ihren Leibern wirksame Stoffe, die in den üblichen Kulturen nicht oder wenigstens nicht bald in die Flüssigkeit übergehen, dagegen im befallenen Körper unter dem Einflusse der

Digitized by Google

verdauenden Tätigkeit der Organsäfte aufgeschlossen werden. Man hat dafür zwei Namen für zwei Gruppen angenommen, Proteine nach H. Buchner und Endotoxine nach R. Pfeiffer. Anfänglich richtete man das Augenmerk auf die durch Kochen und Chemikalien aufschließbaren Teile, die Proteine, später ist man weniger eingreifend vorgegangen, um die labileren Stoffe nicht zu zerstören und gewann mittels schonenderer Aufschließungs- und Extraktionsverfahren die Endotoxine, deren Vorhandensein und antikörperauslösende Wirkung durch Einspritzung der lebenden oder vorsichtig abgetöteten Kulturen bekannt geworden war.

Proteine. Die hitzebeständigen Stoffe des Bakterienleibes stellte H. Buchner (MmW. 90. 1084) nach der Methode von Nencki dadurch dar, daß er die von der Kartoffel abgeschabten Rasen von Bac. pyocyaneus mit 0,5proz. Kalilauge in Lösung brachte, das Protein (Pyocyanin) durch vorsichtigen Zusatz von Säure ausfällte und mit Sodalösung aufnahm; diese mit Säuren fällbaren Körper nannte er Alkaliproteine.

Mit Säure nicht fällbare Proteine erhielt H. Buchner durch scharfe Antrocknung der Bakterienmasse bei erhöhter Temperatur, Verreibung mit der 10fachen Menge Wasser und stundenlanges Kochen unter dem Rückflußkühler oder im Autoklaven bei 120°, dann Filtrierung durch Kieselgur (MmW. 91. 841). In ähnlicher Weise stellte R. Koch das alte Tuberkulin dar (s. S. 239).

Die gemeinsame Eigenschaft der Proteine aller Bakterien ist, lymphtreibend zu wirken (G. Gärtner und F. Roemer, Jahrber. 8. 523), weiße Blutkörperchen anzulocken und Entzündungserscheinungen hervorzurufen, wie H. Buchner unter anderem an seinem eigenen Körper bewies (BkW. 90. 216). Die Bakterienproteine wirken chemotaktisch gegenüber Leukozyten.

Unter Chemotaxis versteht man die Fähigkeit verschiedener gelöster Stoffe, kleine Organismen derart zu beeinflussen, daß sie sich durch Anziehung zu ihnen hin oder durch Abstoßung von ihnen weg begeben: positive oder negative Chemotaxis. Die Bezeichnungen stammen von Pfeffer; seine Untersuchungen wurden von Leber u. a. weiter verfolgt (Näheres s. bei C. Weigert, HR. 1. 589 und R. Heinz, Handb. d. exp. Path. und Pharmakol., Jena bei G. Fischer, 1904; I. Bd., S. 280 ff.).

Die Leukozytenanlockung im Körper durch Bakterienproteine hat H. Buchner durch Einschiebung von mit ihnen gefüllten Kapillaren unter die Rückenhaut von Kaninchen gezeigt und weiterhin festgestellt, daß die Eiweißstoffe von höheren Pflanzen und Tieren ebenfalls positiv chemotaktisch auf die weißen Blutzellen wirken, z. B. Glutenkasein, Legumin, Alkalialbuminat aus Muskelfleisch u. s. w. Ein seit H. Buchner zur Erzeugung bakterienfreier Eiterung viel gebrauchtes Mittel ist die Einspritzung von Glutenkaseinbrei; man stellt ihn her durch kalte Anreibung von Aleuronat (Hundhausen) 2,0, Amylum 0,5, Aq. dest. 200,0, kocht 10 Minuten und sterilisiert im Dampf.

Spezifische Wirkung kommt den Proteinen zu, je nachdem sie von der oder jener Bakterienart stammen. So rufen z. B. abgetötete Tuberkelbazillen, wie zuerst M. Prudden und E. Hodenpyl

Digitized by Google

nachgewiesen haben, bei intravenöser Einverleibung Endothelveränderungen in den Haargefäßen der Lunge und dann der Leber mit Bildung von Knötchen hervor, die miliaren Tuberkeln vollkommen ähnlich sind (HR. 2. 7); bekannt sind die spezifischen Wirkungen des Tuberkulins und Malleins.

Auf das alte Tuberkulin reagieren bekanntlich tuberkulös erkrankte Individuen mit Fieber. Das Präparat wird auch zur Behandlung der Krankheit verwendet, eignet sich aber nach W. Dönitz nur für die Anfangsstadien. Wo schon Zerstörungsvorgänge eingetreten sind, wird das neue Präparat, das Tuberkulin R angewendet (Zeitschr. f. d. ärztl. Fortbildungswesen 1904, Nr. 13).

Das alte Tuberkulin wird nach R. Koch so gewonnen, daß eine größere Menge Glyzerinbouillon oberflächlich besät wird, so daß Oberflächenwachstum erfolgt. Wenn die bei 38° gebildete Haut nach 6 bis 8 Wochen untergesunken ist, wird die Kultur auf $^1/_{10}$ ihres Volums eingedampft und von den dabei abgetöteten Bazillen abfiltriert. Die Stärke des Präparats wird vor der Anwendung an einer Reihe Meerschweinchen geprüft, die sich möglichst in demselben Stadium künstlich erzeugter Tuberkulose befinden (DmW. 91. 1192).

Das Tuberkulin R wird aus Tuberkelbazillen hergestellt, die durch mehrtägige Verreibung in der Kugelmühle zertrümmert worden sind. Nach einer früheren Mitteilung von R. Koch wurde dann die wäßrige Aufschwemmung zentrifugiert. Die Flüssigkeit und was sich oben abschied (Tuberkulin O), wurde abgegossen und nur der Rest, das Tuberkulin R weiter verarbeitet. Dieser schlammige Bodensatz wurde wiederum getrocknet, zerrieben, aufgeschwemmt und zentrifugiert und das Verfahren mit dem jedesmaligen Bodensatz so oft wiederholt, bis kein Bodensatz mehr ausfiel (DmW. 97. 209).

Später verwendete R. Koch lediglich eine Aufschwemmung der zerriebenen Tuberkelbazillen im Verhältnis von 1 Teil Pulver zu 100 Teilen Wasser und ebensoviel Glyzerin. Nach mehrtägigem freiwilligem Absetzenlassen wurde die Flüssigkeit abgegossen und konserviert. Das Präparat ist aus den Höchster Farbwerken zu beziehen (DmW. 01. 833).

Endotoxine. In den trocken zertrümmerten Bazillen waren nicht nur die hitzebeständigen, sondern auch die hitzeempfindlichen Stoffe des Bakterienleibes aufgeschlossen vorhanden. Sie waren zur aktiven Immunisierung geeignet und man versuchte sie deshalb mit anderen, leichter ausführbaren Verfahren zu extrahieren. Den neueren lag die weitere Absicht zu Grunde, die immunisierenden Bestandteile möglichst frei von den für den Organismus schädlichen Giftstoffen zu erhalten.

Auspressung in der hydraulischen Presse nach vorheriger Zerreibung mit Kieselgur und Quarzsand haben E. und H. Buchner, sowie M. Hahn angewendet, um sogenannte Plasmine aus verschiedenen pathogenen Bakterien herzustellen (MmW. 97. 299; BkW. 97. 322). Statt der Pressung wurde später das Acetonverfahren versucht (s. S. 234).

Gefrierenlassen mittels flüssiger Luft und folgende Verreibung in einem besonderen Apparat diente A. Macfadyen und S. Rowland

Digitized by Google

dazu, Typhusbazillen zu zerkleinern, um nach Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung und Zentrifugierung eine unerwünschter Beimengungen entledigte bakterienfreie Zellflüssigkeit zu gewinnen (C. 34. 332).

Trockene Hitze hat F. Loeffler auf die Bakterien wirken lassen, entweder 120° 2 bis 3 Stunden oder 150° 30 Minuten lang, um die Bakterien abzutöten, ohne ihre Fähigkeit, im Tierkörper die Bildung spezifischer Antikörper auszulösen, zu beeinträchtigen (DmW. 04. 1913).

Autolyse unter aseptischen Vorsichtsmaßregeln ist von H. Conradi im Jahre 1901 eingeführt worden: Von 20 Stunden alten Typhusagarkulturen in großen Schalen wurde der Bakterienrasen abgenommen, mit steriler physiologischer Kochsalzlösung versetzt, so daß diese $^2/_3$ des gesamten Bakterienmaterials ausmachte, 24 bis höchstens 48 Stunden in den Brütschrank bei 37° gestellt und dann die überstehende Flüssigkeit abgehoben; die vereinigten Flüssigkeiten wurden mit der 5fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung versetzt und durch Kieselgurfilter filtriert. Erwies sich das Filtrat keimfrei, dann wurde es auf $^1/_{10}$ bis $^1/_{50}$ seines Volums bei 30° im Vakuum eingedampft und so das wasserlösliche Bakteriengift gewonnen (DmW. 03. 26).

Einfacher sind M. Neißer und K. Shiga (DmW. 03. 61) verfahren: Eintägige Typhusagarkulturen, in je 10 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, wurden 1 Stunde bei 60° erhitzt (höhere Wärmegrade schwächten bereits zu sehr ab), 2 Tage bei 37° gehalten und durch Reichelkerzen filtriert. In dieser Flüssigkeit waren „freie Rezeptoren", das heißt Stoffe, die nach Einspritzung im Körper zur Bildung spezifischer Antistoffe Veranlassung gaben.

Die Autolyse setzt sich, wenn die Bakterien nicht entfernt werden, fort, es werden allmählich immer mehr toxische Substanzen in die Flüssigkeit abgegeben, die, wie sich gezeigt hat, für die Immunisierung nebensächlich sind, dagegen den behandelten Organismus schädigen. Die Stoffe, die die Bildung von Agglutininen, Präzipitinen und Bakteriolysinen im Blutserum des behandelten Körpers auslösen, sind schon nach einem oder einigen Tagen in der Flüssigkeit vorhanden. Sie gehen in noch erheblicherem Maße in sie über, wenn nicht physiologische Kochsalzlösung, sondern destilliertes Wasser genommen wird.

Die Autolyse mit destilliertem Wasser haben L. Brieger und M. Mayer (DmW. 04. 980) eingeführt. Die Aufschwemmung von zwei 24 Stunden alten, lebenden Typhusagarkulturen in 10 ccm destilliertem Wasser bleibt entweder 6 bis 24 Stunden bei Zimmerwärme stehen oder, was wesentlich besser wirkt, sie wird so lange oder länger im Schüttelapparat lebhaft bewegt. Von Meningokokkenkulturen haben W. Kolle und A. Wassermann den in einer Kolleschen Schale gewachsenen Rasen in 10 ccm destilliertem Wasser aufgeschwemmt und die Bakteriensuspensionen, vor Licht geschützt, 4 bis 5 Tage hindurch mit dem Schüttelapparat behandelt. Sie nannten das so gewonnene Produkt „künstliches Aggressin".

Aggressine oder Angriffstoffe ist ein von W. Kruse eingeführter Name. Kruse wollte damit die supponierten Stoffe des Bakterien-

Digitized by Google

leibes bezeichnen, die die natürliche Widerstandskraft des Organismus gegen die Mikroorganismen überwinden sollen. O. Bail glaubte sie in Exsudaten aus Tieren gewinnen zu können, die einem für sie stark infektiösen Mikroorganismus erlegen sind; die darin vorhandenen Bakterien werden zunächst durch Zentrifugieren und Zugabe nicht zu eingreifend wirkender desinfizierender Mittel unter Zuhilfenahme mäßiger Erwärmung auf 44° beseitigt; dann wird die Exsudatflüssigkeit verwendet; sie wirkt infektionsbefördernd; nicht tödlich oder mehr subakut verlaufende Infektionen werden unter ihrer Mitwirkung zu akut tödlichen. A. Wassermann und J. Citron sahen darin lediglich die Wirkung gelöster Bakteriensubstanzen (DmW. 05. 1101), während O. Bail und seine Mitarbeiter darin etwas anderes und mehr als diese erblickten, insbesondere auch die Wirkung spezifischer Körpersubstanzen der infizierten Tierart, der die aggressinhaltigen Exsudate entstammten (s. E. Weil, C. 41. 121).

Bakteriengifte in der Kulturflüssigkeit.

Hitzeempfindliche Gifte, auf die der Körper mit Antitoxinbildung antwortet, kennt man nur bei wenigen Bakterienarten, so bei Diphtherie-, Tetanus- und Botulismusbazillen. Ihre Reindarstellung ist vielfach versucht worden, z. B. durch Ausfällung aus der Kultur, dem Gewebssaft befallener Individuen oder aus Kulturfiltraten mit Alkohol oder durch Aussalzung und Entfernung der Salze mittels Dialyse, aber es fielen immer noch andere eiweißartige Stoffe mit. Schließlich hat man auf solche doch nur Verlust an Toxinen bringende Maßnahmen verzichtet und die Kulturflüssigkeiten nach vorsichtiger Abtötung oder Entfernung der Keime den Tieren in vorsichtig steigender Menge einverleibt, um in ihrem Blutserum die Antitoxine zu erhalten. In dem Kapitel über antitoxische Sera wird darauf noch zurückzukommen sein. Hier seien nur einige zu derartigen Arbeiten erforderliche Apparate erwähnt, nämlich, da die Filter bereits S. 34 bis 37 beschrieben worden sind, diejenigen für Dialyse und einige für Abdampfung bei niederen Wärmegraden im luftverdünnten Raum.

Dialysatoren bestehen aus einer runden Glaswanne, die mit Wasser gefüllt wird; hinein taucht ein Glaszylinder, dessen untere Oeffnung mit feucht übergezogenem und festgebundenem Pergamentpapier verschlossen ist (Fig. 192); dieses läßt zwar die Salze der innen aufgegossenen Lösung durchtreten, nicht aber die kolloiden, nicht kristallisierbaren Stoffe (Eiweiß, Leim u. s. w.). Vor dem Gebrauche hat man sich der Dichtigkeit des Pergamentpapiers durch Aufgießen von Wasser zu versichern; ist sie nicht vollständig, kann durch Auftragung von flüssigem Eiweiß und nachheriges Gerinnenlassen durch Erwärmung nachgeholfen werden. Ist an einer weiteren Verwendung des Salzes nicht gelegen, dann darf das Wasser im äußeren Gefäß durch Verbindung mit der Wasserleitung immer im Zu- und Abfluß gehalten werden. Wenn die der Dialyse zu unterwerfenden Mengen gering sind, genügt ein oben zugebundenes Säckchen aus Pergamentpapier, das ins Wasser gehängt und womöglich in drehender Bewegung erhalten wird.

Digitized by Google

Einen Apparat nach B. Proskauer zur Dialysierung von Flüssigkeiten gegen strömendes Wasser zeigt Fig. 193. Der Dialysator wird

Fig. 192.

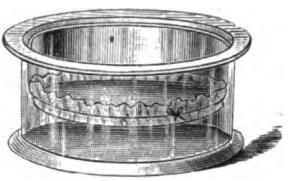
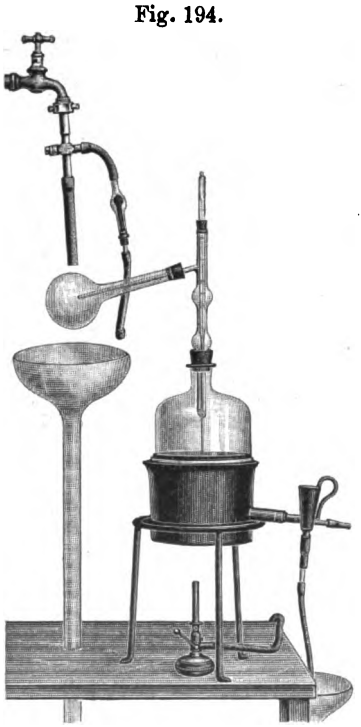


Fig. 193.

im Dampf sterilisiert, die Flüssigkeit nach Lüftung des Wattestopfens durch C in den Pergamentpapierbeutel P gegossen und das Rohr a mit der Wasserleitung verbunden. Das Wasser tritt ins Gefäß B und verläßt es bei b (F. & M. Lautenschläger).

Fig. 194.



Vakuumabdampfapparate dienen dazu, eine Flüssigkeit bei mäßiger, die Bakteriengifte oder Antistoffe möglichst wenig schädigender Wärme einzuengen. Eine Einrichtung im großen, von F. & M. Lautenschläger ausgeführt, ist von Kolle im Klin. Jahrb. 11. 393 beschrieben und abgebildet. Für kleine Mengen und orientierende Versuche kann man sich mit einfacheren Zusammenstellungen behelfen, wozu Anleitungen bei R. Anschütz und H. Reiter, Die Destillation unter vermindertem Druck im Laboratorium (Bonn bei F. Cohen), zu finden sind.

Der Apparat Fig. 194 ist nach solchen Mustern mit einigen Abänderungen von W. Weichardt aufgebaut worden. In einem Wasserbade hängt die Schale für die einzuengende Flüssigkeit. Ihr Rand ist ein breiter Falz und ruht auf dem Rande des Wasserbades. Auf ihn ist ein breiter Gummiring gelegt und darauf eine Glocke gesetzt, die man durch Absprengen einer starkwandigen Literflasche (oder einer etwas größeren) gewonnen hat. Sobald die Luft abgesaugt wird, preßt sie der äußere Luftdruck so fest gegen den Gummiring, daß ein hermetischer Verschluß hergestellt ist. Durch den Stopfen der Flasche führt ein T-Rohr, das das bis in die Flüssigkeit reichende Thermometer trägt, zu dem Kolben, der das abdampfende Wasser auf-

Digitized by Google

zunehmen hat; die notwendige Kühlung des Kolbens wird hier gleich durch das von der Wasserstrahlluftpumpe kommende Wasser bewirkt. Die Pumpe ist durch einen starkwandigen Gummischlauch mit dem Kolben unter Zwischenschaltung eines Rückschlagventils verbunden. Von dem Einführungsrohr für das Thermometer kann man einen mit Quetschhahn versehenen Gummischlauch abgehen lassen, um bei eintretendem Siedeverzug zur Verhütung einer Temperatursteigerung Luft in die Flüssigkeit einzuführen; doch kann man dem Siedeverzug ziemlich gut durch Einlegung eines Platindrahtes in die Flüssigkeit begegnen.

Krankheitserregung und Virulenz.

Wenn ein gefundenes Kleinwesen als Erreger einer bestimmten Krankheit angesehen werden soll, müssen nach R. Koch drei Bedingungen erfüllt sein:

1. Der Parasit muß in jedem einzelnen Falle der betreffenden Krankheit vorhanden sein, und zwar unter Verhältnissen, die den pathologischen Veränderungen und dem klinischen Verlauf der Krankheit entsprechen.

2. Er darf bei keiner anderen Krankheit als zufälliger oder nicht pathogener Schmarotzer vorkommen.

3. Er soll, vom Körper vollkommen isoliert und in Reinkulturen hinreichend oft umgezüchtet, im stande sein, von neuem die Krankheit zu erzeugen.

Der letzte Punkt kann natürlich nur erfüllt werden, wenn die Krankheit auf Tiere übertragbar ist. Ist das nicht möglich, sind aber die beiden ersten Forderungen erfüllt, dann kann auch ohnedem der Beweis des ursächlichen Zusammenhangs zwischen Parasit und Krankheit geliefert werden.

Virulenz ist die Größe der krankheitserregenden Eigenschaft eines Kleinwesens. Um über sie Aufschluß zu erhalten, reicht die bloße Uebertragung auf ein empfängliches Tier nicht aus, man muß auch die Menge feststellen, die zur krankmachenden oder tödlichen Wirkung erforderlich ist.

Die **Dosierung** des Infektionsstoffs geschieht am einfachsten durch Einspritzung abgemessener Mengen von 1 bis 2 Tage alten Kulturen in Flüssigkeit (Bouillon) unter Berücksichtigung des Körpergewichts der Tiere. Man nimmt also z. B. 1, 2 oder 10 mgr = cbmm auf 1 g Tier, demnach für eine Maus von 20 g Gewicht etwa 0,02 ccm. Da sich diese Menge nicht gut abmessen läßt, verdünnt man die Kultur erst aufs 10fache, was mit Hilfe zweier Wasserpipetten leicht zu erreichen ist. Von der gut umgeschüttelten Kultur wird 0,1 ccm, die man in der Pipette aufsteigen läßt (nicht saugen!), in ein steriles Reagenzglas und mit der anderen Pipette 0,9 ccm Bouillon hinzugefügt; vom Gemisch zieht man 0,2 ccm in eine Spritze (s. S. 163) und impft damit unter die Haut des Rückens mit der Vorsicht, daß nichts daneben fließt.

Digitized by Google

Die Oesendosierung nach R. Pfeiffer ist genauer; sie wird mit jungen Kulturrasen von festen Nährböden erzielt, von denen man so viel abnimmt, als eine 1 mm-Oese (s. S. 19) zu fassen vermag, was ungefähr 2 mg der Kultur entspricht. Der Inhalt der Oese wird in einem oder mehreren Kubikzentimetern Bouillon durch Verreibung an der Glaswand gründlich verteilt und davon ein Bruchteil eines Kubikzentimeters eingespritzt, so daß das Tier je nach seiner Größe und der zu erwartenden Virulenz der Kultur eine ganze oder nur $^1/_{10}$, $^1/_{100}$ u. s. w. Oese, allenfalls eine millionenfache Verdünnung erhält.

Die Gewichtsdosierung wurde von P. H. Römer anstatt der von ihm verpönten Oesendosierung bei Untersuchungen mit Tuberkelbazillen angewandt. Bei so sprödem Material läßt sich allerdings mit der Oese keine genaue Bestimmung machen. Auf ein absolut trockenes, vorher durch Abbrennen in 70proz. Alkohol gereinigtes und gewogenes Uhrglas wird eine Oese Kultur übertragen; wenn sie auf flüssigem Nährboden (Bouillon mit 2% Glyzerin) gewachsen war, wird das mit einem Platinspatel abgehobene Oberflächenhäutchen zuvor auf sterilisiertem Fließpapier getrocknet. Man stellt auf der chemischen Wage das Gewicht der Bazillenmasse fest und spült sie dann mit einigen Kubikzentimeter Bouillon in eine Reibschale und aus dieser nach gehöriger Verreibung in einen Meßzylinder. Etwaige in der Schale zurückgebliebene Reste werden von neuem in Bouillon aufgeschwemmt, verrieben und in den Meßzylinder umgegossen und schließlich der Inhalt des Meßzylinders nach Belieben, z. B. auf das 5000fache des Gewichts der Bazillenmasse mit Bouillon ergänzt; davon enthalten dann je 5 ccm 0,001 Bazillenmenge (Römer, Habilitschr. Marburg 03; Kossel, Weber und Heuß, KGA. Tub. Arb. 1. 9).

Durch Impfung von nur wenig Tieren mit einer sehr kleinen und einer sehr großen Gabe überzeugt man sich zunächst von der Größe der Virulenz im allgemeinen; dann versucht man weiter mit gut abgestuften Mengen, um schließlich die tödliche Mindestdosis, die Dosis letalis minima für die betreffende Tierspezies und den verwendeten Bakterienstamm herauszubekommen.

Verlust an Virulenz tritt bei vielen Bakterien ein, wenn sie außerhalb des Körpers gezüchtet werden, und wenn entweder die Kultur altert oder durch mehrere Generationen fortgeführt wird. Es ist damit nicht notwendig eine Wachstumsverminderung verbunden; im Gegenteil die Kulturen passen sich oft dem saprophytischen Dasein so an, daß sie üppiger werden und leichter angehen als es der Fall war, da sie zum ersten Male vom Körper wegkamen, z. B. Rotzbazillen u. a.

Künstliche Abschwächung der Virulenz hat in brauchbarer Weise zuerst L. Pasteur beim Milzbrandbazillus durch **Anwendung höherer Wärmegrade** erzielt. Er hielt die Kulturen 24 Tage bei 42 bis 43° und nannte den dadurch an Virulenz verminderten Stamm I. Vaccin, den durch nur 12tägige Erwärmung noch virulenter gebliebenen II. Vaccin*).

*) Von französischen Schriftstellern wird das Wort Vaccin, wie von deutschen öfters der Ausdruck Lymphe, zur allgemeinen Bezeichnung von Schutz-

Digitized by Google

Nacheinander eingespritzt verliehen sie den Tieren gegen eine subkutane Impfung mit virulentem Milzbrand Schutz, nicht aber gegen Fütterungsmilzbrand, wie R. Koch und seine Schüler später bewiesen haben. Nach Koch, Gaffky und Loeffler waren bei 42,5° 3 bis 4 Wochen nötig, um in neutralisierter Hühnerbouillon gezüchtete Milzbrandkulturen völlig abzuschwächen, bei 43° genügten schon wenige Tage, bei 47° einige Stunden, bei 50 bis 53° bereits Minuten. Je niedriger also die angewendete Temperatur, desto langsamer ging die Abschwächung von statten, aber desto sicherer konnte man auch sein, sie nicht bloß bei der augenblicklichen Kultur, sondern auch bei folgenden Generationen zu haben. Bis zu 9 Tagen bei 42° gezüchteter Milzbrand lieferte Kulturen, die Kaninchen nicht mehr töteten, zwischen 10. und 24. Tag entstanden solche, die auch noch Meerschweinchen am Leben ließen und nach noch längerer Zeit war auch die Virulenz für Mäuse geschwunden (KGA. Mittl. 2. 147; s. a. G. Sobernheim, ZfH. 25. 314).

Die Abschwächung durch Hitze gelang nur noch sicher bei Pestbazillen, bei anderen Bakterien nicht in gleicher Weise. Erhöhter Druck, dauerndes Schütteln, Elektrizität lieferten keine zuverlässigen Ergebnisse.

Die **Abschwächung mit Chemikalien** ist unter Anwendung verschiedener Desinfektionsmittel versucht worden. Bei Pestkulturen hat sich Alkohol geeignet erwiesen; hochvirulente Kulturen konnte H. Hetsch durch 3- bis 4malige Züchtung erst in 0,1-, dann 2-, oder gleich in 5proz. Alkoholbouillon für Meerschweinchen avirulent machen (ZfH. 48. 442).

Die **Durchschickung** durch den Körper einer anderen Tierspezies hat sich bei manchen Erregern als ausgezeichnet zur Abschwächung erwiesen. Die von E. Jenner zur Schutzpockenimpfung benutzte Lymphe aus originären Kuhpocken war ein Infektionsstoff mit derart abgeschwächter Virulenz; wie man jetzt weiß, lassen sich die Kuhpocken durch Ueberimpfung von Menschenpocken auf Rinder erzeugen. Das von L. Pasteur gegen Tollwut eingeimpfte Virus fixe ist Straßenwutvirus, das durch mehrfache Passage durch den Kaninchenkörper zu einem für Kaninchen hochvirulenten, für den Menschen dagegen abgeschwächten Infektionsstoff geworden ist (E. Marx). Die beiden Beispiele zeigen außerdem, daß die im Körper gewisser Tierarten abgeschwächten Erreger zur Schutzimpfung (aktiven Immunisierung) beim Menschen mit Erfolg verwendet werden können.

Steigerung der Virulenz ist bei solchen Keimen möglich, die daran durch Umzüchtung außerhalb des Körpers Einbuße erlitten haben. Ueber einen gewissen Punkt hinaus läßt sich die Steigerung nicht treiben, denn einerseits ist die Empfänglichkeit der einzelnen Tierspezies verschieden, anderseits ist selbst beim Zusammentreffen des empfänglichsten Individuums und des virulentesten Erregers stets eine

impfungsflüssigkeiten gebraucht, obwohl die Benennungen im eigentlichen Sinne nur auf die Pockenschutzimpfung passen, die mit lebenden, abgeschwächten Erregern ausgeführt wird.

Digitized by Google

gewisse Zeit zwischen Einimpfung und Erkrankung gelegen, die sich bei verschiedenen Krankheiten verschieden, nach Stunden, Tagen oder selbst Wochen bemißt; denn allen Infektionsstoffen und den von ihnen erzeugten Giften ist die Inkubationszeit eigentümlich.

Die Passage durch den Tierkörper, d. h. die Ueberimpfung auf empfängliche Tiere in möglichst großer Reihe hintereinander, ist das bekannteste Mittel zur Virulenzsteigerung. Bei den Pestbazillen erzielte E. Martini eine besondere Steigerung für ein Organ, nämlich die Lungen, durch Uebertragung frischen Pestpneumoniesaftes von Lunge zu Lunge der Meerschweinchen; gleichzeitig war die Kraft des Infektionsstoffes überhaupt erhöht, denn diese Stämme gaben auch auffallend üppige Kulturen und töteten bei intraperitonealer Uebertragung schließlich in 6 bis 9 Stunden mit der Neigung, auch bei dieser Art der Einimpfung Pestpneumonien zu erzeugen, die hervortraten, wenn man durch Anwendung ungenügender Gaben von Immunserum den Eintritt des Todes auf einige Tage hinausschob (ZfH. 38. 332).

Durch gleichzeitige Einführung von andersartigen, auch nicht krankheitserregenden Bakterien oder von keimfreien Stoffwechselprodukten (filtrierten Kulturen) hat man ferner die verminderte Virulenz zu heben gesucht, so von Streptokokken durch Proteus vulgaris bei Kaninchen (E. Klein, r. C. 12. 690), von Typhusbazillen durch Einspritzung von Proteus vulgaris oder Bac. coli comm. (J. Sanarelli, Chantemesse und Widal, AP. 6. 721 und 755), von Anaerobiern wie Tetanus- oder Oedembazillen durch Miteinführung septischer Aerobier (F. G. Novy, ZfH. 17. 222), wobei aber nach W. Dönitz (Die deutsche Klinik 01. 62) lediglich der Sauerstoffverbrauch durch die Aerobier das Begünstigende ist.

Auch im Reagenzglase gelang eine Virulenzsteigerung und zwar durch spezifisches Immunserum, das man dem für die Kultur bestimmten flüssigen Nährmittel zugesetzt hatte (F. Wechsberg bei Diphtheriebazillen, F. Hamburger, sowie W. Symmers bei Choleravibrionen, r. C. 33. 233 und 473; C. 37. 23). Selbst gewöhnliches Blut oder Blutserum soll der Virulenz wieder aufhelfen (A. Walker, r. MmW. 02. 2161; Shaw, r. C. 34. 111); E. v. Dungern beobachtete dies bei Züchtung von Diphtheriebazillen in einem Gemisch von Ascitesflüssigkeit und Peptonbouillon (C. 19. 137).

Erhaltung der Virulenz auf Nährböden suchte man dadurch zu erreichen, daß man bei den besten Ernährungs- und Wärmeverhältnissen, sowie bei dem geeignetsten Reaktionsgrad züchtete und möglichst frühzeitig, alle zwei, ja selbst jeden ganzen oder halben Tag auf frische Nährböden überimpfte: sogenannte „homogene Kultur". Der Name stammt von E. Metschnikoff; später wandten sie vornehmlich E. Wasserzug (AP. 1. 584) und E. Czaplewski (ZfH. 12. 371) an. Diese offenbaren Umständlichkeiten kann man in den meisten Fällen mit Leichtigkeit dadurch umgehen, daß man Kulturen oder, was bei vielen Bakterien besser ist, Herzblut, Eiter, Organsaft, Exsudate an Seidenfäden im Exsikkator über Chlorcalcium oder Phosphorpentoxyd antrocknet und dauernd darin aufbewahrt. Wie dies am einfachsten gemacht wird, s. S. 285. Einige Arten, z. B. die Choleravibrionen, die Bakterien der Geflügelpest ertragen die Austrocknung

Digitized by Google

nicht; letztere lassen sich monatelang virulent erhalten, wenn man das Herzblut in Kapillaren aufsaugt, diese abschmilzt und dunkel aufbewahrt. Bei den Bakterien, die sich trocken aufbewahren lassen, habe ich bis jetzt nur gesehen, daß die Keime allmählich weniger werden; die entwickelten Kolonien töteten die Tiere in derselben Zeit, wie im frischen Zustande. Ein halbes Jahr halten sich so die Keime mindestens, viele Arten noch viel länger. Von den sporenfreien habe ich bis jetzt die längste Dauer bei Micrococcus tetragenus gesehen; eine Agarkultur vom Jahre 1902 ging noch 1905 üppig an und die mit einer Spur subkutan geimpfte Maus starb in $1\frac{1}{2}$ Tagen, der kürzesten Zeit, die ich für diese Mikroorganismen kenne. Sporen halte man nicht für so widerstandsfähig, daß man von dieser Art der Aufbewahrung bei ihnen Umgang nehmen könne. Auch bei ihnen wird die Virulenz am besten gewahrt, wenn sie geschützt von den schädlich wirkenden Einflüssen der wechselnden relativen Feuchtigkeit der Luft aufbewahrt werden.

Virulentmachung nichtpathogener Bakterien gelang M. H. Vincent mit Bac. megaterium und Kartoffelbazillen, wenn die Kulturen nach der Methode von E. Roux in Kollodiumsäckchen in die Bauchhöhle von Tieren eingeführt worden waren (AP. 98. 785).

Kollodiumsäckchen sind zuerst im Pasteurschen Institut zur Virulenzerhöhung angewendet und nachher viel gebraucht worden; andere suchten sie durch Säckchen aus Schilfrohr, Fließpapier, Zelloidin oder Dünndarm vom Frosch zu ersetzen. Wer Interesse an der Technik der Herstellung hat, sei verwiesen auf: J. Petrutschky, Jahrber. 4. 419; Sidney Wolf, C. 20. 380; H. Conradi, ZfH. 31. 303; Mac Crae, r. HR. 02. 751; C. B. Gorsline, C. II. 8. 498; Macleod Harris, C. 32. 74; W. D. Frost, C. 34. 733. Die von E. Metschnikoff eingeführten Schilfsäckchen sind im Handel, z. B. bei F. & M. Lautenschläger in Berlin, zu haben.

Wirkung der Mikroorganismen im Körper.

Die **örtliche Wirkung** der Krankheitserreger ist verschieden. Ohne irgend eine Veränderung zu machen, passieren manche die unverletzten Schleimhäute und rufen erst in den nächstgelegenen Organen, in diesem Falle meistens in den Lymphdrüsen, Entzündungen hervor, andere veranlassen örtliche Entzündungen mit oder ohne Eiterung bereits an der Eintrittsstelle; an der inneren Körperoberfläche entstehen in diesem Falle entweder seröse oder eitrige oder fibrinöse Ausschwitzungen, im Darm Entzündung und allenfalls Geschwüre.

Die **Allgemeinwirkung** kennzeichnet sich fast immer durch erhöhte Wärmeproduktion, also durch Fieber verbunden mit Abgeschlagenheit, Abnahme des Körpergewichts, was durch die außerordentliche Leistung, der gewisse Zellgebiete im Körper unterworfen sind, erklärlich wird. Die Abnahme des Appetits, die Ablenkung der Zelltätigkeit von der Nahrungsaufnahme erscheint im Lichte der Ehrlichschen Anschauung über die Analogie der antitoxischen und antibakteriellen Tätigkeit der

Digitized by Google

Körperzellen mit den Vorgängen bei der normalen Verdauung und bei der Assimilation der Nahrungsstoffe als ein begreiflicher Vorgang.

Die **speziellen Wirkungen** der einzelnen Krankheitserreger sind verschieden und äußern sich nach allen möglichen Richtungen hin. Bei den einen ist das Zentralnervensystem die hauptsächlichste Haftstelle für das Toxin (Tetanus, Wut, Wurstgift), von anderen wird besonders das Gefäßsystem alteriert, sei es, daß nur Gefäßerweiterungen, Schädigung der Gefäßwände und Erscheinungen von seiten des Herzens (Influenza-, Streptokokkenerkrankungen) oder Blutaustritte entstehen (Purpura, Pest); oder es werden Blut und blutbildende Organe angegriffen, rote und weiße Blutkörperchen zerstört u. a. m.

Phagozytose ist eine der Folgen der Wirkung. Wie Fremdkörper überhaupt, so üben die in den Körper eingedrungenen Bakterien eine chemotaktische Wirkung (s. S. 238) aus, nur in einem den Eigentümlichkeiten der lebenden Mikroorganismen entsprechenden beträchtlichen Grade; die herzugewanderten Leukozyten nehmen die Bakterien auf und suchen sie zu verdauen; dabei können die noch lebenden Mikroorganismen ihrerseits über die Leukozyten Herr werden und sie vernichten. Außer den wandernden kommt auch fixen Gewebszellen die Fähigkeit zu, Bakterien aufzunehmen. E. Metschnikoff, der Begründer der Phagozytentheorie, unterscheidet die Gewebsphagozyten in Blut- und Lymphgefäßen, Bindegewebe, Muskeln, Knochen, parenchymatösen Organen als Makrophagen von dem aus dem Blute stammenden Mikrophagen. Eine eingehende Darstellung der Phagozytose bei der Entzündung findet sich im Handb. d. experim. Pathol. und Pharmakol. von R. Heinz, Jena bei G. Fischer, Bd. I, 1, S. 294 ff.

Die Phagozytose ist nach E. Metschnikoff am ausgesprochensten bei natürlich immunen und bei künstlich immunisierten Tieren. Letzteres ist außerhalb des Körpers von A. E. Wright und St. Douglas in der Weise beobachtet worden, daß sie Staphylokokkenaufschwemmungen mit gewaschenen weißen Blutkörperchen zusammenbrachten und aktives, d. h. frisches komplementhaltiges Blutserum normaler Menschen zusetzten; die Phagozytose war hier kräftig, blieb aber aus, wenn das Serum vorher durch Erhitzung inaktiviert worden war.

Opsonine nannten die beiden Autoren die Bestandteile des normalen Serums, die derart auf die Bakterien einwirken, daß sie eine leichte Beute der Leukozyten werden (von opsonare = zum Essen einkaufen, im übertragenen Sinne die Nahrungsmittel zur Mahlzeit vorbereiten; C. r. 35. 377 und DmW. 04. 1929).

Bakteriotropine. Bereits im Jahr 1895 hatten J. Denys und J. Leclef (C. 24. 685) gefunden, daß Blutserum von gegen Streptokokken immunisierten Kaninchen eine lebhafte Phagozytose auslöste, wenn sie es mit Leukozyten normaler Tiere zusammen auf Streptokokken wirken ließen (Serum von normalen Kaninchen mit Leukozyten immunisierter Tiere versagte). F. Neufeld und W. Rimpau sahen die Erscheinung auch dann auftreten, wenn sie das Immunserum vor dem Zusatz zu den

Digitized by Google

Bakterien (Streptokokken und Pneumokokken) durch Erwärmung auf 59° inaktiviert hatten. Sie bezeichneten diese Eigenschaft des Immunserums, die Bakterien also umzuwandeln und umzustimmen, daß sie für die Leukozyten aufnahmefähig werden, als **bakteriotrope** (DmW. 04. 1458 und ZfH. 51. 289).

Beobachtungen im Sinne der Opsonine und Bakteriotropine haben später M. Gruber und K. Futaki mit virulenten Typhusbazillen gemacht, wenn sie sie mit aktivem Serum unbehandelter, in noch kräftigerem Maße, wenn sie sie mit dem Serum immunisierter Meerschweinchen zusammengebracht der Freßtätigkeit der Leukozyten aussetzten (MmW. 06. 249).

Immunität*).

Die krankheitserregenden Mikroorganismen schädigen den Körper durch ihre Leibessubstanz, die in ihnen enthaltenen und die von ihnen erzeugten Gifte. Krankheitserreger können nur solche sein, die eine Haftstelle im Körper finden; ist das nicht der Fall, dann besteht natürliche Immunität des Organismus (s. S. 258). Die Haftungsmöglichkeit ist **Empfänglichkeit** (Rezeptibilität), die nicht bei allen Menschen und Tieren gleich ist; sie ist abhängig von der Spezies, der Zahl und Virulenz der befallenden Kleinwesen und von verschiedenen noch nicht näher bekannten Körperzuständen. Die Empfänglichkeit wechselt; ein weniger kräftiger, ein im Ernährungszustand herabgekommener Körper wird leichter befallen, unter dem Einflusse einer Erkältung scheint die Empfänglichkeit gegen manche Infektionen zuzunehmen.

Die Haftorte oder die Ansiedlungsstätten können verschieden sein, entweder sind es die Zellen der Haut und der Schleimhäute oder das Unterhautbindegewebe und die Lymphwege oder das Blut und die blutbildenden Organe oder das Zentralnervensystem oder andere innere Organe. Bei manchen Mikroorganismen oder ihren Giften kennt man spezifische Haftorte, so beim Tetanus- und Botulismusgift und bei der Tollwut das Zentralnervensystem, beim Typhusbazillus den Darm, die Gekrösdrüsen und das Knochenmark, bei der Malaria die roten Blutkörperchen. Das Haften der Kleinwesen und ihrer Gifte ist durch (hypothetische) Haftorgane bedingt, die als Eigentümlichkeit der Zellen überhaupt angenommen werden, mit denen sich die Wirtszellen und die Krankheitserreger oder ihre Gifte aneinander ketten oder verankern.

Diese Verankerungsmöglichkeit kommt den tierischen und pflanzlichen Zellen, ihren Leibessubstanzen und Sekretionsprodukten zu (im Gegensatze zu den bloß durch Lösung oder Salzbildung wirkenden, chemisch scharf definierten, bekannten Giften), also allen hochkomplizierten Verbindungen, die nicht nur unter dem Ausnahmezustande der Infektion als Krankheitserreger und Gifte, sondern insbesondere auch unter physiologischen Bedingungen als Nahrungsstoffe dem Körper einverleibt werden. Von diesem Standpunkte aus sind die Vorgänge,

*) Die Kapitel über Immunität und Immunisierung, teilweise aus meinem 1903 erschienenen Lehrbuch der Hygiene übernommen, sind unter dankenswerter Mithilfe des Herrn Dr. W. Weichardt bearbeitet worden.

Digitized by Google

die sich im Körper unter dem Einflusse der Infektion abspielen, nicht als etwas Absonderliches, sondern als analog denen bei der Aufnahme und Assimilierung der Nahrung anzusehen. Während aber hier nur Stoffe in Betracht kommen, die durch die Verdauungssäfte bereits eine Umwandlung und Modifikation erfahren haben und nichts Lebendes mehr enthalten, auch in der Regel keine toxisch wirkenden Bestandteile führen, ist bei der Verdauung von Bakterien im Innern des Körpers die Lebenskraft der eingewanderten Parasiten zu überwinden, die selbst aggressive Eigenschaften besitzen, so daß das Verhältnis reziprok wird und auch die Mikroorganismen ihrerseits die Körperzellen ihrem Einflusse, ihrer giftigen und verdauenden Tätigkeit zu unterwerfen suchen.

Endotoxine. Die Mikroorganismen enthalten verschiedene enzymähnlich wirkende und giftige Stoffe, Endotoxine, die in unbehandelten Kulturen der meisten nicht nachweisbar sind (s. S. 239 f.); im Körper gelangt ihre giftige Leibessubstanz zur Wirkung, sei es daß ein eigentümlicher Reiz die Absonderung bedingt, sei es daß die Bakterienleiber durch die verdauende Wirkung der Körpersäfte aufgelöst werden.

Toxine. Einige Mikroorganismen, wie die Diphtherie-, die Tetanus- und Botulismusbazillen, erzeugen oder sondern spezifische Gifte ab, die sich in den Kulturen nachweisen lassen. Diese Toxine (s. a. S. 251) unterscheiden sich von den chemisch gut definierten Giften, insbesondere von den giftigen Alkaloiden und Glykosiden, nach P. Ehrlich durch drei Eigenschaften:

1. die Fähigkeit, im Körper Antitoxine zu bilden;
2. das Vorhandensein einer gewissen Inkubationszeit bis zum Eintritt der Wirkung (mit einer bis jetzt bekannten Ausnahme, nämlich Vibrio Nasig R. Kraus);
3. die Empfindlichkeit gegen höhere Temperaturen (schon bei 60 bis 70° Schädigung) und gewisse chemische Mittel (Säuren, Alkalien, Sauerstoff).

Derartige, bis jetzt chemisch nicht faßbare Stoffe werden nicht nur von den Bakterien abgesondert, sondern kommen auch bei höheren Pflanzen vor, in der Jequirity- oder Abrusbohne, im Rizinussamen u. s. w.; solche Gifte, Phytalbumosen, sind z. B. das Abrin, Rizin, Krotin, Robin; ähnlich wirkende sind ferner in Körperflüssigkeiten mancher Tiere enthalten, wie das Spinnen-, das Fischgift, oder werden von den Tieren abgesondert, wie das Schlangen-, das Skorpiongift.

Die Literatur für diesen und den folgenden Abschnitt findet man im Handb. d. path. Mikroorg. Bd. 4, sowie bei:

L. Aschoff, Ehrlichs Seitenkettentheorie; Jena bei G. Fischer 1902;

A. Dieudonné, Immunität, Schutzimpfung und Serumtherapie; zusammenfassende Uebersicht über die Immunitätslehre, 4. Aufl., Leipzig bei J. A. Barth, 1905.

Die Ehrlichsche Theorie.

Gegen alle in den Körper gelangenden Stoffe der vorhin genannten Art bilden die Zellen, falls sie überhaupt reagieren, Abwehr-

Digitized by Google

stoffe, die die eingedrungenen Gifte neutralisieren oder ganze Zellen erfassen, ablenken, töten und verdauen.

Antigene*) ist der Sammelname für die Stoffe, die eine Produktion von Abwehrstoffen anregen.

Rezeptoren, Seitenketten oder Haptine ist der Sammelname für die Abwehrstoffe mit der verschiedenen nachher zu besprechenden Konstitution. Sie sind in größter Mannigfaltigkeit im Blut vorhanden, entstammen den verschiedenen Organen, kommen, je nachdem die einen oder die anderen notwendig oder durch irgend einen Reiz oder eine Schädlichkeit hervorgelockt sind, und verschwinden nach kürzerer oder längerer Zeit wieder, wenn der Reiz aufhört. Sie sind in der Regel widerstandsfähiger als die Antigene, unter deren Einwirkung sie erzeugt worden sind.

Die Rezeptoren werden in zwei große Gruppen geteilt, die Unizeptoren und die Ambozeptoren (s. Fig. 194).

Unizeptoren.

Ehrlich unterscheidet dreierlei Rezeptoren, von denen diejenigen I. und II. Ordnung Unizeptoren sind, nämlich:

Rezeptoren I. Ordnung, das sind die Antitoxine;

Rezeptoren II. Ordnung, dazu gehören die Agglutinine und Präzipitine.

Ehe auf diese Reaktionsprodukte eingegangen wird, ist es nötig, eine Betrachtung der ihre Produktion veranlassenden Stoffe, der Toxine, vorauszuschicken.

Das **Toxin** stellt man sich als ein Gebilde vor, das an seinen beiden Enden die für seine Funktion wichtigen Bestandteile trägt, nämlich an dem einen Ende einen Haftapparat, die haptophore Gruppe, an dem anderen einen Giftapparat, die toxophore Gruppe. In ihrer Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse sind die beiden nicht gleich; die haptophore Gruppe ist bis zu einem gewissen Grade — im Gegensatz zur toxophoren — beständig, letztere ist empfindlicher; schon eine längere Aufbewahrung des Toxins führt zum allmählichen Verschwinden dieser Gruppe. Ein Toxin, das seine toxophore Gruppe aus irgend welcher Ursache eingebüßt hat, heißt

Toxoid; je mehr Toxine in einer Giftlösung in Toxoide verwandelt sind, desto geringer ist ihre Giftigkeit; trotzdem gelingt es, mit den Toxoiden noch Immunität zu erzeugen; denn die noch vorhandene haptophore Gruppe verankert sich an der Zelle und reizt sie zur Abstoßung der passenden Seitenketten ins Blutplasma.

---

*) Die Bezeichnung stammt von L. Deutsch. Das Wort ist aus Antisomatogen (= Immunkörperbildner) zusammengezogen. L. Deutsch und C. Feistmantel, Die Impfstoffe und Sera; Leipzig bei G. Thieme 1903, S. 74.

Digitized by Google

Rezeptoren. Kräftiger ist die Reaktion der Zellen auf den Einfluß eines vollständigen Toxins, vorausgesetzt natürlich, daß es überhaupt eine Verankerungsmöglichkeit besitzt, daß die angegriffene Zelle Rezeptoren (Seitenketten) produziert, zu denen der Haftapparat des Toxins paßt, „wie der Schlüssel zum Schloß". Wenn Toxine in einen Organismus eingeführt werden, dessen Zellen keine zur haptophoren Gruppe des Toxins passenden Rezeptoren besitzen, bleiben sie unwirksam. Ist dagegen die Bedingung des Passens erfüllt, und verankert sich das Toxin, dann kommt die toxophore Gruppe zur Wirkung und schädigt die Zelle. Die Bindung hat man sich immer im chemischen Sinne vorzustellen, nicht im physikalischen, nicht im Sinne einer Flächenattraktion.

Die Schädigung kann mehr oder minder erheblich sein; ist sie sehr intensiv, so verfällt die Zelle dem Tode oder es wird wenigstens ihre Funktion ausgeschaltet; ist sie weniger stark, so wird die Zelle nur teilweise geschädigt und kann ihre Funktion noch erfüllen; sie antwortet dann auf den Reiz mit einer Neubildung der zerstörten Elemente, die sogar im Ueberschuß erfolgt (C. Weigert). Der Menge der von ihr erzeugten Rezeptoren entledigt sich die Zelle durch Abstoßung ins Blut. Die nunmehr frei im Plasma kreisenden Rezeptoren sind Haftorte für alle von außen ins Blut gelangende Toxine derselben Art, auf deren Reize hin sie abgestoßen worden sind; sie fangen die zu ihnen passenden Toxine und leiten sie so von den Körperzellen ab.

1. **Antitoxine** heißen diese auf bestimmte Toxine passenden Seitenketten. E. v. Behring hat sie zuerst im Blutserum der mit Diphtherie- und Tetanustoxin vorbehandelten Tiere erhalten und zur Immunisierung und Heilung bei der menschlichen Erkrankung verwendet. Denn die Wirkung bleibt dieselbe, mag das Antitoxin in dem nämlichen oder in einem anderen Organismus erzeugt und dann auf den Körper eines anderen Tieres übertragen worden sein. Uebrigens kommen sogar unter natürlichen Bedingungen, also ohne nachweisbare Einführung eines Toxins im Körper mancher Individuen Rezeptoren vor, die, zum Diphtherie- und Tetanustoxin passend, im stande sind, es unschädlich zu machen, soweit ihre Menge reicht.

Da die Gifte der Bakterien nicht immer einheitlich sind, sondern aus mehreren giftig wirkenden Stoffen bestehen, kann man in dem befallenen und reagierenden Körper Rezeptoren für jedes einzelne Gift nachweisen; so hat man nach der Vorbehandlung von Tieren mit Tetanusgift in ihrem Blutserum zweierlei Antikörper erhalten, die gegen zwei verschiedene Sekretionsprodukte der Tetanusbazillen wirkten, sowohl gegen das Hämolysin, das Tetanolysin, als auch gegen das Krampfgift, das Tetanospasmin.

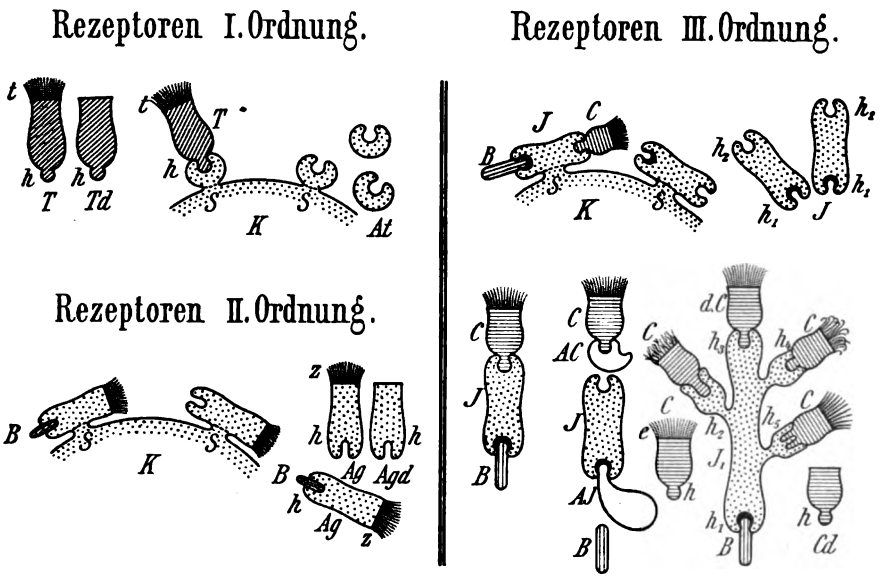
2. **Agglutinine** sind Stoffe, denen die Eigenschaft zukommt, Zellen, seien es Bakterien*), seien es Körperzellen, zur Verklumpung zu bringen. Aehnlich wirkende Stoffe hat R. Kraus in Bakterienkulturen gefunden, und zwar von Staphylococcus pyog. aur. hier mit der Eigen-

*) Bei beweglichen Bakterien sieht man außerdem oft noch eine Beeinträchtigung ihrer Beweglichkeit; sie rührt nicht von der Agglutininwirkung her, sondern von gleichzeitig im Serum vorhandenen anderen Stoffen, wie Zytotoxinen.

Digitized by Google

schaft, rote Blutkörperchen zu agglutinieren (WklW. 02. 120). Die eigentlichen Agglutinine entstehen (neben den später zu besprechenden Lysinen), wenn Bakterien in den Körper eingeführt werden (M. Gruber und E. Durham, MmW. 96. 285). Sie sind ferner nach Einspritzung von Spermatozoen (W. Weichardt, AP. 01. 832), sowie von roten Blutkörperchen (W. Ford, ZfH. 40. 363) beobachtet worden.

Fig. 195.



Rezeptoren I. Ordnung.

T	Toxin mit h haptophorer Gruppe.
	t toxophorer „
Td	Toxoid „ h haptophorer „
K	Körperzelle.
S	Seitenketten.
At	Antitoxin.

Rezeptoren II. Ordnung.

K	Körperzelle.
S	Seitenketten.
B	Bazillus.
Ag	Agglutinin mit h haptoph. Gruppe.
	z zymoph. „
Agd	Agglutinoid „ h haptoph. „

Rezeptoren III. Ordnung.

K	Körperzelle.
S	Seitenketten.
B	Bazillus.
J	Immunkörper mit zwei haptophoren Gruppen:
	h_1 1. haptophore oder zytophile,
	h_2 2. haptophore oder komplementophile Gruppe.
AJ	Antiimmunkörper.
C	Komplement mit h haptoph. Gruppe.
	e ergophorer „
Cd	Komplementoid mit h haptoph. „
AC	Antikomplement.
J_1	Immunkörper mit mehreren komplementophilen Gruppen h_2 bis h_5.
d.C	dominantes Komplement.

Die Agglutinine hat man sich in ihrem Bau ähnlich wie die Toxine zu denken, nämlich mit einer haptophoren und mit einer wirksamen, zymophoren Gruppe.

Digitized by Google

Agglutinoide sind solche Agglutinine, die die zymophore Gruppe verloren haben; das kann durch verschiedene Einflüsse geschehen, z. B. durch Erhitzung.

Antiagglutinine. Ein prinzipieller Unterschied trennt die Bakterienagglutinine von den übrigen: Wenn bakterienagglutinierendes Serum in den Körper eingespritzt wird, so erhält man niemals ein Antiagglutinin (R. Kraus und Ph. Eisenberg, C. 31. 208), denn im Körper des Tieres finden sich nicht die passenden Rezeptoren, sie existieren bloß in der gleichnamigen Kultur. Dagegen veranlassen die körperzellenagglutinierenden, z. B. die in Staphylokokkenfiltraten vorhandenen, Erythrozyten agglutinierenden Substanzen, im Tierkörper Antiagglutininbildung, weil sie allenthalben im Körper passende Rezeptoren finden.

3. **Präzipitine** sind ähnliche Stoffe, die in Lösungen von Eiweiß, z. B. in Kulturfiltraten (R. Kraus) Niederschläge erzeugen; sie entstehen im Blutserum der Tiere, die mit den entsprechenden Stoffen vorbehandelt worden sind.

Sie besitzen eine bindende und eine fällende Gruppe. Geht die letztere verloren, z. B. durch Erwärmung auf etwa 58°, dann bleibt analog dem Agglutinoid ein **Präzipitinoid** übrig, das mit der präzipitierbaren Substanz, dem sogenannten Präzipitinogen, zwar eine Bindung eingeht, jedoch ohne daß eine Fällung, ohne daß ein Präzipitat zu stande kommt (R. Kraus).

Ambozeptoren.

Diese sogenannten Immunkörper sind Rezeptoren III. Ordnung. Sie werden ins Blut abgestoßen und funktionieren dort als Vermittler zwischen den eingedrungenen fremden Zellen einerseits und den sie schädigenden Körperbestandteilen (Komplementen) anderseits.

Die **Immunkörper** sind nach der Ehrlichschen Vorstellung Rezeptoren mit wenigstens zwei Gruppen: die eine, die sogenannte zytophile Gruppe, dient dazu, die in den Körper eingedrungenen fremden Zellen zu fesseln; die andere oder mehrere andere Gruppen passen ausschließlich zu den normalerweise im Blut vorhandenen Komplementen und heißen deshalb komplementophile Gruppen. Der Immunkörper kann mit ihrer Hilfe 1, 2 und noch mehr Komplemente verschiedenen Charakters aufnehmen; das für die jeweilige Wirkung notwendige heißt dominantes Komplement.

Antiimmunkörper entstehen, wenn man immunkörperhaltiges Serum einem Tiere einspritzt. Sie sind von P. Ehrlich und J. Morgenroth für die Immunkörper der Hämolysine (BkW. 01. 598) und gleichzeitig von W. Weichardt für die Immunkörper, die nach Einführung von Spermatozoen im Serum entstehen, nachgewiesen worden.

Die Tatsache, daß sich Antiimmunkörper der letzteren Art auch in weiblichen und in kastrierten männlichen Tieren bildeten, beweist, daß die spezifische Antikörperbildung keineswegs nur an bestimmte Zellgebiete im Körper geknüpft ist.

Digitized by Google

Später haben P. Ehrlich und H. Sachs (BkW. 05. 557) erwiesen, daß die Angriffstelle wichtiger Antiimmunkörper auch an der komplementophilen Gruppe des Immunkörpers sein kann.

Ein **Komplement** wird nach der theoretischen Vorstellung ähnlich wie ein Toxin oder ein Agglutinin aufgefaßt, nämlich als aus zwei getrennten Gruppen bestehend: die eine, die haptophore, paßt auf die komplementophile Gruppe des Immunkörpers, die andere, die zymotoxische, wird jetzt gewöhnlich ergophore Gruppe genannt.

Die Komplemente, die man mit den H. Buchnerschen Alexinen identifizieren kann, sind mehr oder weniger reichlich in jedem normalen Blute vorhanden und zwar in großer Mannigfaltigkeit, so daß den verschiedenen Immunkörpern Gelegenheit gegeben ist, sich mit den verschiedenen Komplementen zu versehen. Wenn in einer Blutart ein bestimmtes, gewünschtes Komplement fehlt, läßt es sich durch das Serum eines anderen Tieres ergänzen, in dem das zum Immunkörper passende Komplement enthalten ist.

An und für sich ist jedes Komplement wirkungslos, es kommt erst durch die Verbindung mit einem Immunkörper zur Aktion, aber niemals zum Schaden des eigenen Organismus, ebensowenig wie im Körper Ambozeptoren entstehen, die gegen die eigenen Zellen und Gewebe gerichtet sind, was P. Ehrlich als Gesetz des Horror autotoxicus formuliert hat.

Komplementoide sind Komplemente, die analog den Toxoiden ihre ergophore Gruppe eingebüßt haben. Der Verlust dieser Gruppe erfolgt z. B. durch Erwärmung eines Serums auf etwa 56°, selbst schon durch einfaches Stehenlassen eines Blutserums außerhalb des Körpers. Komplementoide vermögen zwar einen Immunkörper an seiner komplementophilen Gruppe zu besetzen, aber nicht ihn zu aktivieren. Sie können durch Komplemente von ihrem Sitze verdrängt werden. Manchmal aber zeigen sie eine stärkere Affinität zum Immunkörper und bleiben dann sitzen; in diesem Falle kann das Komplement nicht mehr an den Immunkörper gelangen; man bezeichnet dieses Ereignis in nicht ganz richtiger Weise als Komplementverstopfung.

Wegen jener Labilität der Komplemente ist die Wirkung eines bakteriziden und ähnlichen Serums schon nach kürzerer Aufbewahrung beeinträchtigt. Wenn es trotzdem im Tierkörper noch Wirkung entfaltet, rührt dies daher, daß das betreffende Tier selbst in seinem Blute das nötige passende Komplement hat; ist dies nicht der Fall, dann bleibt die Wirkung aus; so kommt es, daß ein bakterizides Serum gegen dieselbe Infektion bei dem einen Tiere wirksam ist, bei dem anderen nicht (F. Wechsberg, ZfH. 39. 180). Nach chronischen Erkrankungen, Eiterungen oder nach Zerstörung von Geweben, etwa durch ein Trauma, ist von verschiedenen Autoren ein Schwinden der Komplemente beobachtet worden (s. A. Wassermann, DmW. 02. 117).

Antikomplemente entstehen im Blutserum, wenn man Komplemente oder Komplementoide mit ungeschädigter haptophorer Gruppe von einer Tierart in den Körper einer anderen einbringt; man erhält sie z. B., wenn man das komplementreiche Pferdeblutserum einem

Digitized by Google

Kaninchen einspritzt; das danach dem Kaninchen entnommene Serum bringt die Wirkung der Komplemente des Pferdeblutserums zum Verschwinden, das Antikomplement besetzt die haptophore Gruppe des Komplements und lenkt dieses vom Immunkörper ab.

Die Verbindung von Immunkörper und Komplement verleiht dem Serum aktive Eigenschaften, so daß es fremde Zellen oder Zellteile oder gelöste Eiweiße schädigen, töten, verdauen oder zersetzen kann. Solange ein Serum kein Komplement enthält, ist es inaktiv; die Inaktivierung gelingt dadurch, daß man das Serum erwärmt oder längere Zeit außerhalb des Körpers hält und so die Komplemente oder wenigstens ihre ergophore Gruppe zerstört.

Zytolysine heißt man mit E. Metschnikoff alle Sera, die Immunkörper und Komplemente enthalten und eine spezifische Wirkung auf bestimmte Zellen ausüben. Dazu gehören:

1. **Bakteriolysine;** sie wurden von R. Pfeiffer entdeckt; Choleravibrionen, bei denen die Erscheinung am besten zu studieren ist, werden in der Bauchhöhle von Meerschweinchen in kurzer Zeit vollkommen aufgelöst, wenn man gleichzeitig bakterizides Choleraimmunserum einführt. Die Bakteriolyse oder Bakterizidie entfaltet sich in vitro am besten bei frischem Serum, bei altem oder inaktiviertem bleibt sie aus.

Selbst frische und wirksame bakterizide Sera wirken oft ungenügend, auffallenderweise sogar, wenn sie in großer Dosis eingeführt werden. M. Neisser und F. Wechsberg suchen (MmW. 01. 697) die Erklärung dafür darin, daß die Komplemente in diesem Falle zu den nicht an die Bakterien verankerten Immunkörpern größere Avidität haben als zu den bereits verankerten (Komplementablenkung). Der immerhin beschränkte Komplementvorrat erschöpft sich dann an der großen Menge freier Immunkörper.

2. **Hämolysine** haben Belfanti und Carbone vor sich gehabt, als sie das Serum von Pferden, die mit Kaninchenblutkörperchen vorbehandelt worden waren, für Kaninchen toxisch fanden; dann ermittelte J. Bordet, daß Meerschweinchen, denen 5- bis 6mal nacheinander in entsprechenden Zwischenräumen 10 ccm defibrinierten Kaninchenblutes in die Bauchhöhle einverleibt worden waren, ein Serum lieferten, das die Blutkörperchen von Kaninchen auflöste. Bei dieser Auflösung tritt das Hämoglobin in die umgebende Flüssigkeit, das Stroma sinkt zu Boden: die Deckfarbe des Blutes wird zur Lackfarbe. Die Hämolysine sind wegen der günstigen Verhältnisse, unter denen sich mit ihnen arbeiten läßt, vielfach zum Studium der einschlägigen Fragen herangezogen worden.

3. **Spermatozide Substanzen** haben K. Landsteiner (C. 25. 549) und E. Metschnikoff (AP. 00. 369) durch wiederholte Injektionen von Spermatozoen bei Versuchstieren gewonnen. Ihre Wirkung besteht darin, daß sie die sehr charakteristische Bewegung der Spermatozoen zum Stillstand bringen. Der gebräuchliche Name Spermatoxin hat zu Mißverständnissen geführt, weil man gewohnt ist, unter Toxinen die giftigen Stoffwechselprodukte oder Zellbestandteile von Bakterien zu verstehen. Der naheliegende Ausdruck Spermatolysin würde nicht das

Digitized by Google

Richtige treffen, weil eine Auflösung von Spermatozoen nicht erfolgt. W. Weichardt hat deshalb den hier aufgeführten Namen in Analogie mit bakteriziden Substanzen gewählt*).

4. **Andere Zytolysine** hat man gewonnen mit Leukozyten, Synzytialzellen, Flimmerepithelien, Nierenepithelien, Leberzellen, Substanz der Nebennieren, des Pankreas, des Zentralnervensystems. Die Erscheinungen der Zytolysinwirkung sind bei Versuchen mit diesen Zellen der direkten Untersuchung nicht so bequem zugänglich, wie das bei den Blutkörperchen und Spermatozoen der Fall ist.

Zytolysine gegen gelöste Eiweiße. W. Weichardt hat filtrierte Aufschwemmungen von verriebenen Synzytialzellen oder Polleneiweißen mit spezifischem zytolytischem Serum versetzt und danach giftige Wirkung des Gemisches nachweisen können, weil durch die Zytolyse aus den ungeformten Eiweißen Endotoxine freigemacht worden waren (DmW. 02. 624; Berl. klin.-therapeut. Wochenschr. 03. 1). Bei dieser spezifischen zytolytischen Wirkung waren die im spezifischen Serum enthaltenen Immunkörper und Komplemente verankert worden. Hätte man das spezifisch zytolytische Serum dagegen auf andere Eiweiße wirken lassen, dann wäre keine Bindung erfolgt und sowohl Immunkörper als auch Komplemente wären noch frei vorhanden gewesen. Man kann sich allein schon dadurch von einer stattgehabten Zytolyse überzeugen, daß man prüft, ob noch ein Komplement vorhanden ist oder nicht.

Diagnostische Verwertung des Komplementes zytolytischer Sera. a) Beim kranken oder immunisierten Individuum. Versetzt man frisches oder durch Zusatz frischen Serums aktiviertes Blutserum eines Kranken mit den betreffenden Erregern der Krankheit, dann werden diese von den spezifischen Immunkörpern besetzt. Bei einer solchen Bindung ketten die Immunkörper die vorhandenen Komplemente an sich. Die Komplemente bleiben natürlich frei, wenn keine spezifischen Immunkörper vorhanden waren.

Ob die Komplemente gebunden oder frei sind, kann man nach einiger Zeit, etwa nach einer oder mehreren Stunden, während deren man ihnen bei Brütschranktemperatur Gelegenheit gegeben hat, sich zu verankern, dadurch erkennen, daß man inaktiviertes (komplementfreies) hämolytisches Serum und die dazu passenden roten Blutkörperchen hinzufügt.

Sind die Komplemente frei gewesen, dann werden sie das hämolytische Serum aktivieren und es wird Hämolyse eintreten. Diese Erscheinung zeigt an, daß das Individuum Immunkörper noch nicht oder wenigstens nicht in nennenswerter Anzahl gebildet hatte.

Waren jedoch im Krankenserum Immunkörper vorhanden, die die Komplemente für sich verbraucht hatten, dann kann das hämolytische Serum nicht mehr aktiviert werden; die Hämolyse muß ausbleiben. Der negative Ausfall zeigt also einen positiven Gehalt des Organismus an Immunkörpern an (Bordets Fixierungsreaktion).

*) W. Weichardt, Serologische Studien auf dem Gebiete der experimentellen Therapie. Stuttgart bei F. Enke, 1906, S. 5.

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Digitized by Google

Diese Reaktion ist wichtig geworden, weil man mit ihr bei verschiedenen Infektionskrankheiten den Gehalt des Blutes oder von Organsäften an Immunkörpern mit Erfolg feststellen konnte.

b) Zur Bestimmung eines Eiweißes fraglicher Herkunft. Wenn man beispielsweise zum forensischen Nachweis, ob ein Blut vom Menschen stammt oder nicht, zu diesem spezifisches, menschliches Eiweiß bindendes Serum setzt und einige Zeit wirken läßt, werden bejahenden Falles alle Immunkörper und mit ihnen die zugefügten Komplemente verankert. Gibt man nun inaktiviertes hämolytisches Serum zusammen mit roten Blutkörperchen zu, dann wird keine Hämolyse erfolgen. Anderseits wird die Hämolyse eintreten, wenn das untersuchte Blut nicht vom Menschen stammte (Gengou, AP. 02. 734; C. Moreschi, BkW. 05. 1181; M. Neißer und H. Sachs, BkW. 05. 1388).

Natürliche Widerstandsfähigkeit.

Unizeptoren, die sich gegen Toxine, ferner Ambozeptoren, die sich gegen mancherlei tierische oder pflanzliche Zellen und Bakterien wenden und nach Aufnahme des Komplements zu den vorhin genannten Lysinen werden, kommen auch im Blute von normalen Menschen und Tieren vor. Die natürliche Widerstandsfähigkeit ist also im Zusammenhalt mit dem früher Gesagten dadurch bedingt, daß

a) die eingeführten Zellen oder Gifte in dem betreffenden Organismus überhaupt keine Haftungsmöglichkeit, keine Rezeptoren vorfinden,

b) passende Rezeptoren zur Abfangung der schädigenden Stoffe entweder bereits frei vorhanden sind oder auf deren Reiz hin von den empfindlichen Körperzellen in genügender Menge ins Blut abgestoßen werden,

c) passende Rezeptoren an wenig empfindlichen Zellen; z. B. Bindegewebszellen als sogenannte sessile Rezeptoren sitzen und die Toxine oder andere aggressive Stoffe von den empfindlichen Organen ablenken.

Erworbene Widerstandsfähigkeit, Immunisierung und Heilung.

Jede Heilung ist die Folge eines Immunisierungsvorgangs. Ist die Immunisierung eben nur so weit gediehen, daß die schädliche Wirkung der Krankheitserreger paralysiert wird, der Körper aber nicht in der Lage ist, die zur vollständigen Vernichtung der Infektionserreger nötige Menge antibakterieller Stoffe zu bilden und weiterhin Antitoxine zu produzieren, dann ist die Möglichkeit des Auftretens eines Rezidives gegeben. Verschwindet die Fähigkeit der Bildung von Antistoffen nach abgelaufener Krankheit bald wieder, dann ist der Organismus von neuem empfänglich und muß sich seine Immunität von neuem erwerben, z. B. bei Pneumonie, Erysipel u. s. w.

Die erzeugten Antistoffe verschwinden allmählich durch Ausscheidung mit verschiedenen Se- und Exkreten. Praktisch bedeutsam ist ihr Weggehen mit der Milch; P. Ehrlich und L. Brieger bewiesen im Tierversuch die Uebertragung des Antitoxins des Tetanus

Digitized by Google

mit der Milch von der Mutter oder der Amme auf den Säugling: Ammenimmunität.

Bei anderen Infektionskrankheiten ist der erworbene Schutz von jahrelanger Dauer oder erstreckt sich oft durch das ganze Leben, wie bei Pocken, Diphtherie, Typhus u. s. w., wahrscheinlich weil die reagierenden Zellgebiete fortwährend die spezifischen Seitenketten liefern oder sie sofort abstoßen, sobald einmal der betreffende Erreger eingewandert ist.

Aktive Immunisierung

tritt ein, wenn der Organismus eine Krankheit durchmacht und übersteht. Die Antistoffe, die gebildet werden, sind verschiedener Natur, entweder Antitoxine oder Antiendotoxine, ferner Agglutinine und Präzipitine, Bakteriolysine und andere Zytolysine. Künstlich ist sie dadurch zu erzeugen, daß man entweder Toxine einführt oder Mikroorganismen einimpft und so eine leichte oder wenigstens eine nicht tödlich verlaufende Erkrankung hervorruft. Beim Menschen geschieht dies z. B. durch Einimpfung der Vakzine zum Schutz gegen Variola.

Um dem Blute bakterizides Vermögen zu verschaffen, genügen abgetötete Keime; die prophylaktischen Impfungen mit vorsichtig abgetöteten Kulturen von Pest-, Typhus-, Cholerabakterien haben sich bei subkutaner Injektion als schutzverleihend erwiesen. Der Impfschutz soll von längerer Dauer sein, wenn man die bei 60° abgetöteten Bakterien durch Zusatz von spezifischem Antiserum agglutiniert und den Niederschlag nach mehrmaliger Auswaschung einspritzt (Besredka, AP. 02. 918).

Auf die Einspritzungen folgen örtliche Entzündungserscheinungen und allgemeines Krankheitsgefühl, Ziehen in Muskeln, Fieber, Abgeschlagenheit; die Reaktion ist gewöhnlich in 2 Tagen abgelaufen und nach 8 Tagen ist ein gewisser Impfschutz entstanden, der durch wiederholte Einspritzung erhöht werden kann. Die Prüfung des erreichten Immunitätsgrades geschieht nach Entnahme von Blut aus einer Armvene mittels des R. Pfeifferschen Versuchs (s. S. 265) oder der Agglutination oder der Bordetschen Fixierungsreaktion (s. S. 257).

Durch die Einspritzung von Bakterien werden hauptsächlich bakterizide Stoffe, Agglutinine und Präzipitine erzeugt.

Darum helfen derartige Injektionen in der Regel nicht, wenn die Krankheit einmal ausgebrochen ist, weil der Körper nicht mehr Zeit hat, auf sie zu reagieren; im Gegenteil, er leidet noch mehr, weil dadurch viele Bakterienendotoxine frei werden. Bloß bei Infektionskrankheiten mit langer Inkubation oder mit sehr hingezogenem Verlaufe gelingt es oft noch, das Ziel zu erreichen, so bei der Tollwut, die erst Wochen nach dem Bisse ausbricht, so daß das Virus fixe Zeit hat, die Erzeugung von Antistoffen anzuregen; ferner bei der Tuberkulose, deren schleichender Fortgang gestattet, dem Körper mit Injektionen von abgetöteten oder ausgelaugten Tuberkelbazillen zu Hilfe zu kommen, so daß er mit reichlicher Bildung von Antistoffen reagiert.

Schutzimpfung gegen Cholera ist zuerst von Haffkine in Indien mit lebenden, später von W. Kolle (C. 19. 97) mit abgetöteten Kul-

Digitized by Google

turen gemacht worden. Letzterer injizierte einmal 1/5 bis 1/10 Oese einer 24 Stunden alten, durch Chloroformdämpfe abgetöteten Agarkultur. N. Murata berichtete von vollem Impferfolg nach Einspritzung von 4 mg der durch 1/2stündige Erwärmung auf 60° abgetöteten Agarkulturen (C. 35. 605).

Schutzimpfung gegen Typhus. Am geeignetsten haben sich Einspritzungen von 24 Stunden alten Agarkulturen erwiesen, die durch 1 1/2- bis 2stündigen Aufenthalt bei 60° abgetötet, dann mit 3% Phenol versetzt und 1/2 Stunde abermals auf 60° erwärmt wurden. Es werden zwei Impfungen in 8- bis 10tägigen Zwischenräumen gemacht, falls auf die zweite noch keine Allgemeinreaktion erfolgt, noch eine dritte, jedesmal mit steigenden Mengen, und zwar beträgt die Dosis bei der ersten Impfung 2 mg = 1 Oese, bei der zweiten 6 mg = 3 Oesen und bei der dritten 10 mg = 5 Oesen. Trotz dieser Steigerung sind die lokalen und Allgemeinreaktionen bei der zweiten und dritten Einspritzung geringer*).

Schutzimpfung gegen Pest führte Haffkine durch Einspritzung möglichst virulenter Pestkulturen, die eine Stunde lang auf 60 bis 65° erwärmt worden waren, aus. Prinzip und Ausführung sind den vorigen ähnlich, nur hat man wesentlich größere Mengen injiziert, nämlich bis zu einer ganzen Agarkultur.

W. Kolle und Strong haben eine ganze Agarkultur lebender, durch länger dauernde Züchtung bei 41 bis 43° abgeschwächter Kulturen Menschen eingespritzt. Die örtlichen und allgemeinen Erscheinungen waren danach kaum stärker als bei abgetöteten Bazillen, das Blutserum der Geimpften bekam spezifisch agglutinierende und schützende Wirkung (DmW. 06. 413).

Bei toxisch wirkenden Infektionsstoffen vom Typus des Toxins der Diphtherie-, Tetanus- und Botulismusbazillen läßt sich nach ausgebrochener Krankheit eine aktive Immunisierung mit Aussicht auf Erfolg nicht einleiten, denn auch hier würden die Schädlichkeiten für den Körper durch Zuführung neuen Toxins nur vermehrt werden. Bloß bei vorsichtiger Einbringung von Giftflüssigkeit in einen noch nicht befallenen Organismus erreicht man einen Schutz gegen die Krankheit, das ist aber nicht bei Menschen, sondern ausschließlich bei Tieren zulässig. Bei ihnen wird zunächst eine Grundimmunität erzeugt. Nachdem die Reaktion abgelaufen ist, was sich durch Wiederansteigen des verlorenen Körpergewichts zu erkennen gibt, läßt sich der von der ersten Einspritzung her vorhandene Antitoxinüberschuß durch wiederholte Einspritzungen allmählich beträchtlich steigern; schließlich erhält man ein Serum mit viel Antitoxin (freien Unizeptoren), von dem eine verhältnismäßig geringe Menge hinreicht, um eine größere Anzahl Toxine zu binden und unschädlich zu machen.

*) Ueber Typhusschutzimpfungen: I. Gaffky, Bericht des Instituts für Infektionskrankheiten in Berlin; II. Kolle, Hetsch und Kutscher, Vergleichende Untersuchungen über verschiedene Verfahren der Typhusschutzimpfung. Klin. Jahrb. 14, 1. Beitrag zur Schutzimpfung gegen Typhus; Heft 28 der Veröffentl. aus d. Gebiete d. Mil. San.-Wesens; Berlin bei A. Hirschwald, 1905.

Digitized by Google

Passive Immunisierung.

Ein solches Serum läßt sich zur passiven Immunisierung verwenden, d. h. zur Abfangung und Unschädlichmachung der in einem erkrankten Körper kreisenden Toxine; es wird schützend oder heilend wirken, wenn nicht mehr Toxine abzufangen sind, als die betreffende Serummenge vermöge ihres Antitoxingehaltes zu bewältigen im stande ist; dazu ist die Wahrscheinlichkeit am Anfang der Krankheit am größten; zu dieser Zeit sind auch die Körperzellen durch das Toxin noch nicht beträchtlich angegriffen; denn gegen die schon längere Zeit mit ihnen verankerten Toxine und die von letzteren gesetzten Schädigungen ist das Antitoxin machtlos.

In einer praktisch durchaus zufriedenstellenden Weise läßt sich die passive Immunisierung mit dem von E. v. Behring gegen die Diphtherie gewonnenen Serum erzielen. Weniger günstig sind die Erfolge mit dem Tetanusantitoxin; das hat seinen Grund teils darin, daß die Latenzzeit beim Tetanustoxin kürzer ist, so daß die Schädigung oft schon zu weit vorgeschritten ist, teils und wohl vornehmlich darin, daß sich das Toxin auf der Bahn der motorischen Nerven verbreitet (H. Mayer und Ransom), während das Antitoxin erst den indirekten Weg durch Blut und Lymphe machen muß.

Die Dauer der passiv erzeugten Immunität ist viel kürzer als die der aktiv erworbenen. Alle Schutzstoffe werden nach einiger Zeit wieder ausgeschieden, und wenn der Körper nicht gelernt hat, selbst neue zu bilden, ist er danach so empfänglich wie vorher. Ein durch passive Immunisierung erzeugter Schutz gegen Diphtherie, wie er z. B. bei Personen der Umgebung von Kranken in prophylaktischer Hinsicht gemacht wird, hält erfahrungsgemäß nicht länger als etwa 3 Wochen vor, während jemand, der die Diphtherieerkrankung selbst überstanden hat, sei es auch nur in leichtem Grade, ziemlich sicher vor einer Wiedererkrankung geschützt bleibt.

Eine passive Immunisierung mit bakteriziden Seren geht noch weit schneller verloren, wie R. Pfeiffer und E. Friedberger (C. 37. 131) mit Choleraimmunserum bei Menschen und Tieren nachgewiesen haben. Die bakteriolytischen Antikörper waren bereits nach 1 bis 4 bis höchstens 8 Tagen aus dem Blute verschwunden, am raschesten, wenn sie mit fremdem Serum eingeführt worden waren. Denn der passiv immunisierte Organismus hat das Bestreben, die von einer anderen Tierspezies stammenden körperfremden Eiweiße durch spezifische Antikörperbildung zu eliminieren. Bei Anwendung von artgleichem, homologem Serum bleiben die Immunkörper länger im Organismus als bei heterologem; darum hat man beim Menschen an die Immunisierung mit Serum vom immunisierten menschenähnlichen Affen gedacht. Allein die mit der Erlangung eines solchen Serums verknüpften äußeren Schwierigkeiten stehen nicht im Verhältnis zu der voraussichtlich besseren Wirkung; denn die im homologen Serum enthaltenen Antikörper haben durchaus keine höhere Bindungskraft mit dem Gift als die im heterologen Serum befindlichen (C. Bruck, ZfH. 49. 282).

Digitized by Google

Gemischte Immunisierung.

Wenn man abgetötete oder abgeschwächte lebende Bakterien in nicht tödlichen Gaben in den Körper einführt und kurz nachher bakterizides Serum einspritzt, werden die Bakterien sämtlich oder zum Teil aufgelöst und ihre Endotoxine in Freiheit gesetzt. War die Dosis so weit richtig getroffen, daß das Individuum am Leben bleibt, dann hat es bis zu einem gewissen Grade aktive Immunität erlangt. Derartige „Simultanimpfungen" sind von G. Sobernheim zur Bekämpfung der Milzbrandkrankheit im großen mit Erfolg ausgeführt worden, ferner von Lorenz bei Schweinerotlauf, von W. Kolle und G. Turner bei der in ihrer Aetiologie noch unbekannten Rinderpest.

Antitoxische Sera.

Außer gegen Diphtherie und Tetanus sind solche Sera gegen Botulismus, Pyocyaneus- und Rauschbranderkrankung, gegen Schlangen-, Skorpion-, Spinnen-, Fisch- und Aalgift, ferner gegen Rizin- und Abrinwirkung dargestellt worden. Hier sei nur auf die beiden ersteren etwas näher eingegangen.

Diphtherieantitoxin.

Nachdem P. Ehrlich erkannt hatte, daß die Gewinnung eines wirksamen Serums von der Verwendung genügend starker Toxine bei der Immunisierung der Tiere abhängig sei, und nachdem man hochgiftige Kulturen erhalten hatte, ging E. v. Behring von einer solchen aus, von der 0,01 ccm Meerschweinchen von etwa 250 g binnen 4 bis 5 Tagen tötete, und nannte es Normaldiphtherietoxin. Da 1 ccm davon 100 Meerschweine von 250 g Gewicht, also 25000 g Meerschweine tötete, bezeichnete er den Wirkungswert $= +25000$.

Auf eine solche Giftlösung kann jede neue eingestellt werden, wozu freilich ein erheblicher Aufwand von Tieren erforderlich ist; er läßt sich nicht umgehen, wenn man Verluste bei der Immunisierung der Pferde vermeiden will.

Pferde werden genommen, weil sie viel und antitoxinreiches Blut geben, dessen Serum sich leicht abscheidet und für den Menschen, Idiosynkrasien einzelner abgerechnet, ziemlich indifferent ist.

Nachdem durch Einspritzung einer vorsichtig dosierten Giftlösung eine Grundimmunität geschaffen ist, werden die Pferde so lange mit steigenden Gaben behandelt, bis ihr Serum einen genügend hohen Antitoxingehalt erkennen läßt. Dieser wird durch Austitrierung mit einer Giftlösung von bestimmter Konzentration (s. oben) ermittelt; als Indikator dient das Meerschweinchen. Gift und Gegengift neutralisieren sich gegenseitig (Methode der Giftserummischung von P. Ehrlich, Kossel, A. Wassermann).

Ist eine bestimmte Menge Serum gerade im stande, jede schädliche Wirkung jener oben genannten, für Meerschweine 100fach töd-

Digitized by Google

lichen Giftmenge aufzuheben, dann enthält diese bestimmte Serummenge 1 Immunisierungseinheit = 1 IE.; ihr Wert ist = — 25000.

Ermittlung des Giftwertes. Zur Vermeidung eines zu großen Tierverbrauches wird Antiserum von bestimmter Stärke zugesetzt. Zunächst wird die einfach tödliche Gabe bestimmt, die ein Meerschwein von 250 g sicher im Laufe des 4., höchstens noch des 5. Tages tötet. P. Ehrlich setzte zwei Grenzwerte (Limes) fest, Lo und L+.

Lo = die Menge Gift, die durch 1 IE. eben unschädlich gemacht wird.

L+ = die Menge Gift, bei der das Tier in 4 bis 5 Tagen stirbt, obwohl dem Gift 1 IE. zugesetzt worden war.

Die Differenz zwischen Giftüberschuß (L+) und Neutralisationswert (Lo) entspricht nicht ganz der einfachen tödlichen Dosis, tatsächlich ist etwas mehr Gift darin; Ehrlich erklärte diese Unstimmigkeit durch das Vorhandensein von ungiftigen, aber antitoxinbindenden Modifikationen.

Zur Ermittlung des Serumwertes werden abgestufte Mengen des zu prüfenden Serums in mehrhundertfacher Verdünnung mit einer Giftlösung von bekanntem Wirkungswert versetzt und die Gemische, sämtlich durch Flüssigkeitszusatz auf 4 ccm ergänzt, einer Reihe von Meerschweinchen unter die Haut zwischen Brustbein und Achselhöhle eingespritzt. Der gesuchte Wert liegt zwischen den zwei Gaben, von denen die eine das Tier zwischen 4. und 5. Tag tötet, die andere es am Leben läßt. (Näheres s. bei W. Dönitz, Die Wertbemessung der Schutz- und Heilsera; Hdb. d. path. Mikr. 4. 570.)

Man hat Sera hergestellt, die 1000 und mehr IE. in 1 ccm enthielten. Die im Handel befindlichen hochwertigen Sera haben gewöhnlich nicht mehr als 500 IE. in 1 ccm; je hochwertiger ein Serum ist, desto geringere Mengen kann man davon einspritzen. Man braucht:

200 IE. zur Schutzimpfung,
600 bis 1000 IE. in nicht vorgeschrittenen Erkrankungsfällen,
3000 und mehr IE. in vorgeschrittenen Fällen.

Jedes Serum hat, ehe es in den Handel gebracht wird, einer amtlichen Kontrolle im k. pr. Institut für exp. Therapie in Frankfurt a. M. zu unterliegen. Die Umhüllungen oder Etiketten müssen von unterschiedlicher Farbe sein, und zwar bei

200—599 IE. gelb,	1500—1999 IE. rot,
600—999 IE. grün,	2000—2999 IE. violett,
1000—1499 IE. weiß,	3000 und mehr IE. blau.

Das Serum wird in Deutschland vorschriftsgemäß mit 0,5 % Phenol oder 0,3 % Metakresol versetzt, um der Gefahr seitens etwa latent vorhanden gewesener Rotzerkrankung der Pferde zu begegnen, denn Rotzbazillen werden nach H. Bonhoff dadurch sicher getötet. Ueber die Empfehlung von tellurigsaurem Kalium durch B. Gosio s. S. 223.

Tetanusantitoxin.

Die Gewinnung und Wertbemessung ist ähnlich wie beim vorigen, aber schwieriger und komplizierter. Das in den Bouillonkulturen ent-

Digitized by Google

haltene Gift läßt sich auch nicht einigermaßen lange auf der Höhe erhalten; man muß es in Röhrchen verteilt und im Vakuum trocken aufbewahren. Da es vorher nicht filtriert wird, gehen Sporen mit in den Niederschlag über; durch wiederholtes Aussalzen, Auflösen und Zentrifugieren lassen sie sich daraus entfernen (E. Marx, Festschr. z. 60. Geburtstage von R. Koch, S. 451). Die tödliche Mindestgabe ist die, wonach Tiere in durchschnittlich 3 bis 5 Tagen sterben. Der Dosierung muß, wie immer, das Körpergewicht der Tiere zu Grunde gelegt werden. Die einzelnen Arten sind verschieden empfindlich, am meisten ist es der Mensch und das Pferd, von den Versuchstieren folgen der Reihe nach: Meerschweinchen, Maus, Kaninchen. Infolge der Empfindlichkeit des Pferdes ist die Serumgewinnung mühevoller.

Eine Antitoxineinheit (AE.) ist in 1 ccm enthalten, wenn dadurch die tödliche Mindestgabe für 40 Millionen Gramm Mäuse unschädlich gemacht wird.

Bei dem schweren Stande, den das Heilserum dem tetanusinfizierten Körper gegenüber hat (s. S. 261), ist es geraten, in jedem Falle, wo die Art der Wunde, Verunreinigungen mit Erde u. dergl. eine Tetanusinfektion befürchten läßt, prophylaktische Einspritzungen zu machen.

Das v. Behringsche Antitoxin wird zu 100 AE. = einfache Heildosis und zu 20 AE. = Immunisierungsdosis zur vorbeugenden Anwendung von der Marburger Firma Dr. Siebert & Dr. Ziegenbein vertrieben (W. v. Lingelsheim, Hdb. d. path. Mikr. 4. 983).

Bakteriolytische oder bakterizide Sera.

Bakteriolysine finden sich im normalen Blutserum gegenüber verschiedenen Bakterienarten, doch nur in ziemlich geringer Menge. Eine beträchtliche spezifische bakterienauflösende Eigenschaft gewinnt das Blut bei der Ueberstehung einer Infektion oder nach Einverleibung abgeschwächter oder abgetöteter Kulturen (R. Pfeiffer). Danach kann das Blut der Individuen in zweifacher Hinsicht verwendet werden:

1. Zur Diagnose der Krankheit, indem man das entnommene Blutserum auf eine unzweifelhafte Reinkultur des Erregers der vermuteten Erkrankung wirken läßt;

2. zur Identifizierung eines irgendwo gefundenen verdächtigen Bakteriums.

Die Gewinnung und Verwendung bakteriolytischer Sera.

Choleraserum.

Die Ausgangskultur muß so virulent sein, daß sie in der Dosis von $^1/_5$ bis $^1/_{10}$ Oese im stande ist, ein Meerschweinchen von 200 g nach Einspritzung in die Bauchhöhle binnen 24 Stunden zu töten. Solche erhält man durch Züchtung vom cholerakranken Menschen weg. Laboratoriumskulturen eignen sich nicht ohne weiteres, sie müßten erst durch Meerschweinchenpassagen, allenfalls durch Züchtung in Choleraserum (s. S. 246) zum geforderten Grade der Virulenz gebracht worden sein.

Digitized by Google

Der Rasen einer ganzen Agarkultur wird einem Kaninchen in die Bauchhöhle gespritzt. Für den vorliegenden Zweck wird diese als die beste Art der Einverleibung bezeichnet, demnächst die subkutane, weniger die intravenöse. Man wählt Kaninchen, weil ihr Serum normalerweise sehr geringe bakteriolytische Wirkung gegenüber Choleravibrionen hat. Es werden gleichzeitig mehrere Kaninchen so behandelt; 14 Tage danach werden sie entblutet und die abgeschiedenen Serummengen, etwa 40 ccm von jedem Tiere, sorgfältig gemischt (W. Kolle, Klin. Jahrb. 11. 414).

Soll das Serum seine Wirksamkeit nicht verlieren, so muß es im Vakuumapparat getrocknet und in kleinen braunen Glasröhrchen in Mengen von je 0,2 g aufbewahrt werden. Solches Serum wird auf ministerielle Verfügung vom k. pr. Institut für Infektionskrankheiten an amtliche bakteriologische Institute abgegeben (Erlaß v. 23. Jan. 03; KGA. Veröff. 03. 341). Zur Anstellung von Kontrollversuchen dient Serum normaler Kaninchen, in der gleichen Weise getrocknet u. s. w.

R. Pfeifferscher Versuch. Die Wertigkeit des Serums muß derart sein, daß mindestens 0,0002 g davon genügen, um 1 Oese = 2 mg*) einer 18stündigen Choleraagarkultur von konstanter Virulenz, zusammen mit 1 ccm Nährbouillon in die Bauchhöhle von Meerschweinchen gespritzt, innerhalb einer Stunde im Meerschweinchenperitoneum zur Auflösung unter Körnchenbildung zu bringen, d. h. das Serum muß mindestens einen Titer von 0,0002 g haben**).

Zur Ausführung des Pfeifferschen Versuchs***) sind vier Meerschweinchen von je 200 g Gewicht erforderlich.

Tier A erhält das 5fache der Titerdosis, also 1 mg von einem Serum mit Titer 0,0002.

Tier B erhält das 10fache der Titerdosis, also 2 mg des Serums.

Tier C dient als Kontrolltier und erhält das 50fache der Titerdosis, also 10 mg vom normalen Serum derselben Tierart, von welcher das bei Tier A und B benutzte Serum stammt.

Sämtliche Tiere erhalten diese Serumdosen gemischt mit je einer Oese der zu untersuchenden, 18 Stunden bei 37° auf Agar gezüchteten Kultur in 1 ccm Fleischbrühe (nicht in Kochsalz- oder Peptonlösung) in die Bauchhöhle eingespritzt.

Tier D erhält nur ¼ Oese Cholerakultur in die Bauchhöhle zum Nachweis, ob die Kultur für Meerschweinchen virulent ist.

Zur Einspritzung benutzt man eine Hohlnadel mit abgestumpfter Spitze. Die Einspritzung in die Bauchhöhle geschieht nach Durchschneidung der äußeren Haut; es kann dann mit Leichtigkeit die Hohl-

*) Eine Platinöse, die 2 mg faßt, erhält man durch Anwendung der Nummer 1 des Oesenbiegers nach Czaplewski (s. S. 18).

**) Diejenige Dosis, die im Meerschweinchenversuch gerade noch ausreicht, um ein Tier vor dem Zehnfachen der tödlichen Dosis zu schützen, bezeichnet R. Pfeiffer als den „Titer" des Serums oder als Immunitätseinheit; ist also z. B. 0,2 mg die zehnfach tödliche Dosis für ein Meerschwein von 200 g und wird das Tier durch eine Serummenge von 0,0002 g vor dem Tode bewahrt, so ist 0,2 mg der Titer dieses Serums oder 1 IE. und 1 mg dieses Serums enthält 5 Immunitätseinheiten, 1 ccm des Serums 5000 IE.

***) Wörtlich nach der „Anweisung zur Bekämpfung der Cholera", festgestellt in der Sitzung des Bundesrats vom 23. Januar 1904; Berlin 1904 bei J. Springer, S. 45 f.

Digitized by Google

nadel in den Bauchraum eingestoßen werden. Die Entnahme des Peritonealexsudats zur mikroskopischen Untersuchung im hängenden Tropfen erfolgt vermittels Haarröhrchen gleichfalls an dieser Stelle. Die Betrachtung des Exsudats geschieht im hängenden Tropfen bei starker Vergrößerung, und zwar 20 Minuten und 1 Stunde nach der Einspritzung.

Bei Tier A und B muß nach 20 Minuten, spätestens nach einer Stunde typische Körnchenbildung und Auflösung der Vibrionen erfolgt sein, während bei Tier C und D eine große Menge lebhaft beweglicher und in ihrer Form gut erhaltener Vibrionen vorhanden sein muß. Damit ist die Diagnose gesichert.

Behufs Feststellung abgelaufener Cholerafälle ist der Pfeiffersche Versuch in folgender Weise anzustellen:

Es werden Verdünnungen des Serums des verdächtigen Menschen mit 20, 100 und 500 Teilen der Fleischbrühe hergestellt, und davon je 1 ccm mit je einer Oese einer 18stündigen Agarkultur virulenter Choleravibrionen vermischt, je einem Meerschweinchen von 200 g Gewicht in die Bauchhöhle eingespritzt. Ein Kontrolltier erhält $^1/_4$ Oese der gleichen Kultur ohne Serum in 1 ccm Fleischbrühe aufgeschwemmt in die Bauchhöhle eingespritzt.

Bei positivem Ausfall der Reaktion nach 20 beziehungsweise 60 Minuten ist anzunehmen, daß der betreffende Mensch, von welchem das Serum stammt, die Cholera überstanden hat.

Typhusserum.

Gewinnung und Verwendung sind ganz ähnlich wie beim vorigen. Auch hier wird die Virulenz der Kultur an Meerschweinchen geprüft, nur sind für den vorliegenden Fall 300 g schwere Tiere geeigneter als kleinere. Am virulentesten sind frisch aus der Typhusleiche gezüchtete Stämme. Nach R. Pfeiffer und W. Kolle kann ihre tödliche Mindestgabe $^1/_{30}$ bis $^1/_{50}$ Oese betragen, aber auch mehr, $^1/_{10}$ selbst $^1/_5$ Oese, die von Laboratoriumskulturen $^1/_5$ bis $^1/_2$ Oese; anfänglich hoch wirksame Kulturen erleiden bald Einbuße an ihrer Virulenz, die sich auch durch Meerschweinchenpassagen nicht wiederherstellen läßt (ZfH. 21. 207).

Je drei 18stündige Agarkulturen werden in 5 ccm Bouillon oder physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, eine Stunde auf 70° erwärmt und Kaninchen an je 2 Stellen unter die Haut des Rückens gespritzt. Solche erhitzte Kulturen können in $^1/_2$proz. Phenollösung ohne Beeinträchtigung ihrer Wirksamkeit 1 bis $1^1/_2$ Monate aufbewahrt werden. Der Titer des Serums der behandelten Kaninchen betrug in den Versuchen von R. Pfeiffer und E. Marx nach 6 Tagen weniger als 0,1, nach 13 Tagen 0,01, d. h. es waren nach 6 Tagen 100, nach 13 Tagen bloß 10 mg Serum nötig, um 1 Oese Typhusbazillen, aufgeschwemmt in 1 ccm Bouillon, innerhalb der Bauchhöhle von Meerschweinchen zur Auflösung zu bringen (DmW. 98. 489).

Dieser R. Pfeiffersche Versuch kann zur Prüfung eines typhusverdächtigen Stammes auf seine Echtheit oder zur Erkennung der Höhe des Impfschutzes nach erfolgter aktiver Immunisierung (s. S. 260) verwendet werden. Die Art und Weise seiner Ausführung ist in der

Digitized by Google

Reichsvorschrift „Maßnahmen zur Bekämpfung des Typhus“ enthalten. In dem zugehörigen Entwurf einer Dienstanweisung für die zur Typhusbekämpfung eingerichteten Untersuchungsämter heißt es (KGA. Veröff. 04. 1278):

„Das hiezu verwendete Serum muß möglichst hochwertig sein.

Zur Ausführung des Pfeifferschen Versuches sind 4 Meerschweinchen von je 200 g Gewicht erforderlich.

Tier A erhält das 5fache der Titerdosis des Serums.

Tier B erhält das 10fache der Titerdosis des Serums.

Tier C dient als Kontrolltier und erhält das 50fache der Titerdosis vom normalen Serum derselben Tierart, von welcher das bei Tier A und B benutzte Serum stammt.

Sämtliche Tiere erhalten diese Serumdosen gemischt mit je einer Oese der zu untersuchenden, 18 Stunden bei 37 ° auf Agar gezüchteten Kultur in 1 ccm Fleischbrühe (nicht in Kochsalz- oder Peptonlösung) in die Bauchhöhle eingespritzt.

Tier D erhält nur 1/4 Oese Kultur intraperitoneal, um festzustellen, ob die Kultur für Meerschweinchen virulent ist.

Zur Injektion benutzt man eine Kanüle mit abgestumpfter Spitze. Die Injektion in die Bauchhöhle geschieht nach Durchschneidung der äußeren Haut; es kann dann mit Leichtigkeit die Kanüle in den Bauchraum eingestoßen werden. Die Entnahme des Peritonealexsudats zur mikroskopischen Untersuchung im hängenden Tropfen erfolgt vermittels Glaskapillaren gleichfalls an dieser Stelle. Die Betrachtung des Exsudats geschieht im hängenden Tropfen bei starker Vergrößerung, und zwar 20 Minuten, 1 Stunde und 2 Stunden nach der Injektion.

Bei Tier A und B muß spätestens nach 2 Stunden typische Körnchenbildung oder Auflösung der Bazillen erfolgt sein, während bei Tier C und D eine große Menge lebhaft beweglicher und in ihrer Form gut erhaltener Bazillen vorhanden sein muß. Damit ist die Diagnose gesichert.“

Agglutinierende Sera.

Die Erscheinung der Agglutination ist zuerst von M. Gruber und H. E. Durham mit Blutserum von Tieren, die gegen Choleravibrionen und Typhusbakterien immunisiert waren, erkannt (MmW. 96. 206 und 285) und bald darauf von Widal für die klinische Diagnostik verwendet worden. Sie beruht darauf, daß die Bakterien in wäßriger Aufschwemmung, die salzhaltig sein muß, nach Zugabe von spezifischen Agglutininen unbeweglich werden und zu Häufchen oder Klumpen zusammentreten, was man an der entstehenden Trübung und Ausflockung auch mit bloßem Auge erkennen kann.

Die Bakterienaufschwemmung soll in physiologischer Kochsalzlösung, nicht in Bouillon hergestellt werden. Denn oft entstehen Verklumpungen von Bakterien schon bei der Uebertragung in gewöhnliche Nährbouillon infolge ihres Gehaltes an tertiären Phosphaten; es ist durch das Studium der Ausflockungserscheinungen bei kolloidalen Lösungen bekannt, daß dreiwertige Metalle oder deren

Digitized by Google

Salze gut klären, während es einwertige nicht tun. Die Bakterien sollen aus gut entwickelten Kulturen stammen, die nicht älter als 24 Stunden sind.

Agglutinierendes Blutserum von spezifischer Wirkung wird dadurch erhalten, daß man lebende oder abgetötete Bakterien einem Tiere einmal oder wiederholt, am besten intravenös einführt. Von Tieren wählt man solche, deren Blut im normalen Zustande möglichst geringe agglutinierende Wirkung gegenüber den betreffenden Bakterien hat.

Die Mischung von Bakterienaufschwemmung und agglutinierendem Blutserum wird quantitativ gemacht, so daß abgestufte Mengen des Serums der möglichst gleichmäßig angelegten Verreibung einer Oese Agarkultur in physiologischer Kochsalzlösung in kleinen Röhrchen zugegeben werden. Die Beobachtung geschieht mit bloßem Auge oder bei schwacher Vergrösserung höchstens mit einem stärkeren Trockensystem, denn bei Anwendung der Oelimmersion kann man auch unter gewöhnlichen Verhältnissen kleine Häufchen erkennen, die spezifische Agglutination vortäuschen.

Die agglutinierten Bakterien selbst sehen nicht anders aus wie normale; etwa vorhandene Geißeln bleiben trotz aufgehobener Beweglichkeit in ihren Formen erhalten (s. Taf. VIII, Fig. 44); nur bei den Pneumokokken ist von F. Neufeld eine Quellung in stark agglutinierendem Serum gesehen worden, wenn gleiche Teile desselben zu der gewachsenen Bouillonkultur gegeben worden waren; bei Mischungen von 1 Teil Serum mit 4 bis 8 Teilen Bouillonkultur erfolgte Agglomeration zu lockern, zierlich gewundenen Knäueln (ZfH. 40. 54).

Eine Abart ist die sogenannte Fadenreaktion, die M. Pfaundler bei verschiedenen Kolistämmen, bei Typhus- und Proteusbakterien und Bac. lactis aerogenes sah, wenn die Keime in dem Serum von fiebernden Kranken gewachsen waren (C. 23. 9). Nach R. Kraus unterscheidet sie sich von der eigentlichen Agglutination dadurch, daß sie nur bei höherer Konzentration des Serums (1 : 40) zustande kommt, während die Agglutination noch bei hohen Verdünnungen auftritt (r. HR. 10. 445).

Die Agglutinierbarkeit der verschiedenen Bakterienarten ist ungleich. Ch. Nicolle und M. Trenel unterschieden drei Gruppen (AP. 02. 562), die mit einigen Abänderungen von R. Paltauf (Handb. d. path. Mikr. 4. 669) folgende sind:

1. Gut agglutinable Bakterien, bei denen man die Reaktion mit Blut vom kranken oder genesenden Menschen kennt: Typhusbazillen, verschiedene Rassen von Bact. coli und nahestehenden Formen, wie der Psittakose, der Dysenterie, Bac. enteritidis u. s. w., Choleravibrionen, Bakterien von grünem Eiter, Rotz, Pest, Proteus vulgaris.

2. Weniger empfindliche Bakterien, bei denen vorwiegend künstlich erzeugte Sera die Reaktion geben, seltener Blut vom infizierten Menschen oder Tiere und dann nur in meist schwachem Maße: Die Erreger der Diphtherie, des Milzbrandes, Tetanus, malignen Oedems, Rauschbrandes, der Tuberkulose, Influenza, Meningitis cerebrospinalis; Staphylo-, Strepto-, Pneumokokken u. s. w.; Soor und Hefen.

Digitized by Google

3. Fast refraktäre Bakterien, bei denen sich auch auf künstlichem Wege nennenswerte Agglutininmengen nicht erzielen lassen: Bac. Friedländeri und ähnliche.

Hochwertigkeit der Sera muß erreicht werden, wenn man Tiere zur Gewinnung eines spezifischen agglutinierenden Serums vorbehandelt, soweit es mit der betreffenden Bakterienart möglich ist; so soll bei Behandlung mit Typhusbazillen wenigstens der Wert 1 : 10000 bis 20000, mit Choleravibrionen 1 : 10000, mit Ruhrbazillen 1 : 600 erhalten werden.

Die Hauptagglutinine sind diejenigen, die auf die eingespritzte Bakterienart wirken; sie müssen in jedem Falle in der Ueberzahl sein, damit sie nicht durch Nebenagglutinine verdeckt werden; das ist aber nur in hochwertigen Seris der Fall.

Nebenagglutinine sind entweder schon normalerweise im Blute vorhanden oder entstehen unter dem Einflusse der in den Organismus eingeführten Bakterien und richten sich gegen Verwandte von ihnen; so treten bei Infektion mit Typhus solche gegen Paratyphusbazillen, nach Einspritzung von Choleravibrionen gegen verwandte Vibrionen auf. Ihre Zahl und damit ihre Wirkungskraft kann unter Umständen, ohne daß eine Mischinfektion vorliegt, die der Hauptagglutinine übertreffen (s. z. B. bei H. Conradi, DmW. 04. 1165); in hochwertigen künstlich hergestellten Seris bleibt sie aber hinter den Hauptagglutininen zurück.

Mitagglutinine oder Partialagglutinine (A. Wassermann) sind solche, die, nach Einführung einer Bakterienart entstehend, sich auch gegen andere Bakterienarten wirksam erweisen. Ihr Auftreten ist auf Rezeptorengruppen zurückzuführen, die das eingeführte Kleinwesen mit irgendwelchen anderen Arten gemeinsam hat. Sie sind in der Regel dem Hauptagglutinin gegenüber in der Minderzahl und dann für die Identifizierung eines Bakteriums nicht besonders störend; sie verschwinden meist mit dem Hauptagglutinin, wenn man das agglutinierende Serum mit dem Bakterienstamm, unter dessen Einwirkung es entstanden ist, absättigt.

Die Absättigung hat A. Castellani (bei Typhusserum und für Nebenagglutinine) in folgender Weise vorgenommen: ½ oder 1 ccm des Serums vom Typhuskranken wird mit 4 bis 8 großen Oesen einer Typhuskultur versetzt und die durch Verreibung erzielte Aufschwemmung für 12 Stunden dem Brütschranke übergeben. Sollte das Serum danach sein Agglutinationsvermögen noch nicht völlig eingebüßt haben, dann wird der Zusatz von Typhusbakterien wiederholt. Hat es nunmehr sein Agglutinationsvermögen vollkommen verloren, was daran zu erkennen ist, daß es zunächst trüb bleibt, so hält man es noch 12 bis 24 Stunden im Eisschrank, wobei Klärung eintritt. Dieses klare Serum wird zur Agglutinationsprobe mit dem anderen vermutlichen Erreger, z. B. mit Paratyphusbazillen benutzt, denn für diesen hat es gegebenenfalls sein Agglutinationsvermögen unverändert beibehalten. Auf eine Mischinfektion läßt sich aber daraus nicht mit Sicherheit schließen.

Die Anwendung agglutinierender Sera ist dieselbe wie diejenige bakteriolytischer; sie sind ebensowohl bei und nach Ablauf der auf

Digitized by Google

natürlichem Wege entstandenen Krankheit, als nach der künstlichen Einverleibung lebender oder abgetöteter Kulturen vorhanden. Darum kann auch hier das Blut von Kranken oder vorbehandelten Tieren verwendet werden:

1. Zur Diagnose der Krankheit, indem man das entnommene Blutserum auf eine unzweifelhafte Reinkultur des Erregers der vermuteten Krankheit wirken läßt (bei Kranken);

2. zur Identifizierung eines irgendwo gefundenen verdächtigen Kleinwesens (nur zulässig mit hochwertigem Serum spezifisch vorbehandelter Tiere).

Die **Bestimmung der Grenzwerte** ist für eine genaue Untersuchung unerläßlich; dabei soll nicht bloß die geringste, sondern auch die größte Verdünnung ermittelt werden, bei der Agglutination statthat. Zum mindesten muß die Verdünnung etwas größer sein als die, bei der normales Blut im Höchstfalle auf den betreffenden Krankheitserreger wirken kann; so fordert man z. B. für die Typhusdiagnose ein Verhältnis des Kranken- bezw. Rekonvaleszentenserums zur Bazillenaufschwemmung zum allerwenigsten von 1 : 50, weil normales Menschenblutserum Typhusbazillen in dieser Verdünnung nicht mehr agglutiniert. In positiven Fällen läßt sich die agglutinierende Wirkung noch in höheren Verdünnungsgraden erhalten; für wissenschaftliche Zwecke zu den unter Ziffer 2 gedachten Identifizierungen ist es notwendig, den absolut höchsten Grad, bei dem Agglutination eintritt, festzustellen; es kann dies unter Umständen für die Frage von Nebenagglutininen, Verwandtschaftsreaktionen u. s. w. von Wichtigkeit sein. Für die Praxis, wo es sich um die Diagnose der Krankheit handelt, reicht man in der Regel mit der oben genannten Grenze oder einigen Graden höher aus.

In negativen Fällen darf man sich aber nicht mit einer geringen Verdünnung verbescheiden, sondern man muß noch nachsehen, ob das negative Resultat auch bei stärkeren Verdünnungen bleibt; denn es hat sich die auffallende Tatsache herausgestellt (R. Scheller, C. 38. 100), daß hochwertige Sera unter Umständen ihr Agglutinationsvermögen erst bei diesen zu Tage treten lassen.

Die Gewinnung und Verwendung agglutinierender Sera.

Choleraserum.

Hochwertiges agglutinierendes Serum erhält man durch intravenöse Einführung virulenter frischer, jedoch abgetöteter Kulturmassen. Die Abtötung geschieht durch einstündige Erwärmung auf 60°. Man nimmt große, möglichst kräftige Kaninchen und gibt ihnen in 7tägigen Zwischenräumen zusammen drei Einspritzungen von 1 Oese, 3 und 5 Oesen der abgetöteten Vibrionen; 7 Tage nach der letzten wird das Serum entnommen. Esel und Pferde eignen sich besser, weil ihr Blut im normalen Zustande geringere Agglutinationsfähigkeit gegenüber Choleravibrionen hat und weil sie mehr Blut liefern; ihnen müssen mehrere Agarkulturen (1, 2, 4, 6, 7, 8, 8, 12) in 7tägigen Zwischenräumen

Digitized by Google

intravenös eingespritzt werden; bei Pferden gelingt es, den Agglutinationswert besonders hoch zu treiben, z. B. auf 1 : 10000. Das gewonnene Serum wird im Vakuumapparat getrocknet und in abgewogenen Mengen in braunen zugeschmolzenen Röhrchen aufbewahrt. Solches Serum wird nebst Kontrollserum vom k. preuß. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin an amtliche bakteriologische Institute abgegeben; in der Gebrauchsanweisung dazu sind neben dem Titer, d. h. der Grenzdosis, diejenigen Konzentrationen vermerkt, die sich zur Anstellung der orientierenden Agglutinationsprobe am besten eignen; z. B. sind bei einem Pferdeserum mit einem Titer 1 : 10000 die Dosen auf 1 : 2000 und 1 : 3000 angegeben. Die orientierende Agglutinationsprobe soll vor allem dazu dienen, auf den Agarplatten die Kolonien, von denen man abimpfen will, herauszufinden (nach W. Kolle, Ueber den jetzigen Stand der Choleradiagnose, Klin. Jahrb. 11. 391 ff., wo die einzelnen nachstehend aufgeführten amtlich vorgeschriebenen Versuche eine nähere, begründende Besprechung erfahren haben). In der „Anweisung zur Bekämpfung der Cholera", festgestellt in der Sitzung des Bundesrats vom 28. Januar 1904, heißt es S. 43 f.:

„Agglutinationsversuch

a) im hängenden Tropfen (in 0,8 Prozent Kochsalzlösung) bei schwacher Vergrößerung. Es muß mit dem spezifischen Serum in zwei verschiedenen Konzentrationen sofort, spätestens aber während eines 20 Minuten langen Verweilens im Brutschranke bei 37° deutliche Häufchenbildung eintreten. Zur Kontrolle ist ein Präparat mit einer 10mal so starken Konzentration von normalem Serum derselben Tierart, von welcher das Testserum stammt, herzustellen und zu untersuchen. Bei diesem Untersuchungsverfahren ist zu berücksichtigen, daß es Vibrionenarten gibt, welche sich im hängenden Tropfen so schwer verreiben lassen, daß leicht Häufchenbildung vorgetäuscht wird.

b) Quantitative Bestimmung der Agglutinierbarkeit. Mit dem Testserum werden durch Vermischen mit 0,8 Prozent (behufs vollständiger Klärung 2mal durch gehärtete Filter filtrierter) Kochsalzlösung Verdünnungen im Verhältnisse von 1 : 50, 1 : 100, 1 : 500, 1 : 1000 und 1 : 2000 hergestellt. Von diesen Verdünnungen wird je 1 ccm in Reagenzröhrchen gegeben, und je eine Oese der zu prüfenden Agarkultur darin verrieben und durch Schütteln gleichmäßig verteilt. Nach einstündigem Verweilen im Brutschranke bei 37° werden die Röhrchen herausgenommen und besichtigt, und zwar am besten so, daß man sie schräg hält und von unten nach oben mit dem von der Zimmerdecke zurückgeworfenen Tageslicht bei schwacher Lupenvergrößerung betrachtet. Der Ausfall des Versuchs ist nur dann als positiv anzusehen, wenn unzweifelhafte Häufchenbildung (Agglutination) erfolgt ist.

Bei jeder Untersuchung müssen Kontrollversuche angestellt werden und zwar:

1. mit der verdächtigen Kultur und mit normalem Serum derselben Tierart, aber in 10fach stärkerer Konzentration;

2. mit derselben Kultur und mit der Verdünnungsflüssigkeit;

Digitized by Google

3. mit einer bekannten Cholerakultur von gleichem Alter wie die zu untersuchende Kultur, und mit dem Testserum."

Dazu ist zu bemerken, daß es leicht und schwer agglutinable Stämme gibt, und daß dieser Unterschied von der Virulenz unabhängig ist. Im Laboratorium monate- und jahrelang fortgezüchtete Kulturen eignen sich nicht, weil sie sogenannte Pseudoagglutination zeigen. Will man derartige Kulturen auf ihre Identität prüfen, dann muß man ein Kaninchen mit ihnen immunisieren und das gewonnene Serum untersuchen, ob es auf echte Choleravibrionen oder auf irgendwelche andere Vibrionen agglutinierend (oder bakteriolytisch) wirkt. Ferner heißt es S. 42 der genannten Anweisung:

„Feststellung abgelaufener Cholerafälle.

Abgelaufene choleraverdächtige Krankheitsfälle lassen sich feststellen durch Untersuchung des Blutserums der Erkrankten. Aus dem vermittels Schröpfkopfs oder Venenpunktion am Vorderarme gewonnenen Blute stellt man mindestens 1 ccm Serum her und macht damit verschiedene abgestufte Verdünnungen mit 0,8 Prozent Kochsalzlösung behufs Prüfung auf agglutinierende Eigenschaften gegenüber einer bekannten frischen Cholerakultur und behufs Anstellung des Pfeifferschen Versuchs."

Typhusserum.

Hochwertiges agglutinierendes Typhusserum läßt sich durch intravenöse Einspritzung von 1 Stunde auf 56 bis 58° erwärmten Typhusagarkulturen gewinnen. O. Lentz immunisierte Kaninchen mit drei Injektionen von 2, 4 und 6 Oesen erhitzter Kulturmasse, aufgeschwemmt in 2 bis 5 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung, in Zwischenräumen von 5 bis 7 Tagen. 10 Tage nach der letzten Einspritzung wurden die Tiere entblutet. Der Agglutinationstiter solcher Sera schwankte bei den einzelnen Tieren zwischen 1 : 5000 bis 1 : 20000. Zur Aufbewahrung werden die Sera im Vakuum bei einer Wärme von nicht über 37° getrocknet, je 0,2 g Trockenserum in Röhrchen verteilt und diese abgeschmolzen (Hdb. d. path. Mikr. 4. 878).

In den im Deutschen Reiche geltenden „Maßnahmen zur Bekämpfung des Typhus" (KGA. Vöff. 04. 1275 bis 1289) heißt es S. 1277:

„Agglutinationsprobe. 1. Zur Bestimmung einer verdächtigen Kolonie oder einer Reinkultur.

a) Vorläufige Prüfung im hängenden Tropfen (in 0,8proz. Kochsalzlösung) bei schwacher Vergrößerung. Es muß mit dem spezifischen, möglichst hochwertigen Serum in der Verdünnung von 1 : 100 sofort, spätestens aber während eines 20 Minuten langen Verweilens im Brutschrank bei 37° deutliche Häufchenbildung eintreten.

b) Bestimmung der Agglutinierbarkeit im Reagenzglase oder Uhrschälchen. Mit dem Testserum werden durch Vermischen mit 0,8proz. (behufs völliger Klärung zweimal durch gehärtete Filter filtrierter) Kochsalzlösung Verdünnungen im Verhältnis von 1 : 100, 1 : 500, 1 : 1000 und 1 : 2000 hergestellt. Von diesen Verdünnungen wird je 1 ccm in Reagenzröhrchen gegeben, und je eine

Digitized by Google

Oese der zu prüfenden 10 bis 24 Stunden alten Agarkultur darin verrieben und durch Schütteln gleichmäßig verteilt. Nach spätestens dreistündigem Verweilen im Brutschrank bei 37° werden die Röhrchen herausgenommen und besichtigt, und zwar am besten so, daß man sie schräg hält und von unten nach oben mit dem von der Zimmerdecke reflektierten Tageslicht bei schwacher Lupenvergrößerung betrachtet. Der Ausfall des Versuchs ist nur dann als positiv anzusehen, wenn unzweifelhafte Häufchenbildung (Agglutination) erfolgt ist.

Bei jeder Untersuchung müssen Kontrollversuche angestellt werden, und zwar:

1. mit derselben Kultur und mit der Verdünnungsflüssigkeit;

2. mit einer bekannten Typhuskultur von gleichem Alter wie die zu untersuchende Kultur, und mit dem Testserum. Fällt der Agglutinationsversuch mit einer Reinkultur negativ aus, so ist die Kultur zunächst durch wiederholte Uebertragungen auf Agar fortzuzüchten und dann der Versuch zu wiederholen.

2. Zur Prüfung des Serums eines typhusverdächtigen Menschen.

a) Blutentnahme: Die Entnahme des Blutes erfolgt am besten durch Einstich in das vorher gereinigte[1]) Ohrläppchen.

Das tropfenweise herausgedrückte Blut wird in Kapillaren von 6 bis 8 cm Länge und etwa 2 mm lichter Weite, deren spitze, abgeschmolzene Enden vorher abgebrochen sind, aufgesogen.

In die schräg nach unten gehaltene Kapillare muß das Blut schnell eintreten. Geschieht das nicht, so ist bereits Gerinnung erfolgt; man hat dann sogleich ein frisches Röhrchen zu nehmen.

Die Kapillare muß mindestens bis zur Hälfte gefüllt werden.

Mit Blut gefüllte Kapillaren dürfen nur mit Siegellack oder Wachs verschlossen, nicht über der Flamme zugeschmolzen werden.

Kapillaren lassen sich herstellen aus dünnen, 2 mm weiten oder weiteren Barometerröhrchen über dem Bunsenbrenner oder einer hochbrennenden Spiritusflamme.

b) Gewinnung und Verwendung des Serums: Nach einigen Stunden, im Eisschrank schon nach 1 Stunde, hat sich das Serum klar abgesetzt.

Bricht man die Enden der Kapillare so weit ab, daß an dem einen Ende das ausfließende Serum keine Verengerung des Röhrchens mehr zu passieren hat, so erhält man ein klares Serum, fast ohne Beimengung von Blutkörperchen.

Andernfalls wird zweckmäßig zentrifugiert.

Das Serum wird mit einer 1 ccm fassenden, mit $^1/_{100}$ Teilung versehenen Pipette abgemessen und mit steriler 0,8proz. Kochsalzlösung auf das 50fache verdünnt. Ergibt diese Verdünnung weniger als 2 ccm, so wird die Probe auf Agglutination auf einem Deckglase angesetzt; andernfalls mit je $^1/_2$ bis 1 ccm in einem dünnen Reagenzglase.

[1]) Bei der Reinigung des Ohrläppchens mit Alkohol ist das Verdunsten desselben abzuwarten, bevor der Einstich gemacht wird.

Digitized by Google

Mikroskopische Agglutinationsprobe: In je einem auf das Deckglas gebrachten Tropfen der Verdünnung des Serums 1 : 50, sowie einer aus dieser bereiteten Verdünnung 1 : 100 wird sowohl von einer Typhuskultur[1]) wie von einer Paratyphuskultur vom Typus B[1]), im Falle des negativen Ausfalls auch von einer Paratyphuskultur vom Typus A[1]) eine Nadelspitze soweit verrieben, daß man mit bloßem Auge eben eine Trübung sieht; die Platinnadel wird dann abgebrannt und der Tropfen gleichmäßig weiter verrieben.

Auf dem hohlen Objektträger muß das Deckglas durch den Vaselinrand luftdicht abgeschlossen sein.

Makroskopische Agglutinationsprobe: Das übrige Serum wird durch Zusatz einer gleichen Menge 0,8proz. Kochsalzlösung auf 1 : 100 verdünnt und mit den genannten Kulturen auf Agglutinationsfähigkeit im Reagenzglase geprüft (vergl. 1 b).

Auf je 1 ccm Serumverdünnung wird 1 Normalöse (2 mg) der Kultur an der Wand des Röhrchens sorgsam verrieben.

Die angesetzten Proben bleiben entweder 3 Stunden bei 37° oder vom Abend bis zum nächsten Morgen bei Zimmertemperatur stehen.

Bei spärlicher Serummenge werden zwecks Feststellung des Grenzwertes gleiche Mengen der Serumverdünnung und einer Aufschwemmung von 2 Normalösen in 1 ccm 0,8proz. Kochsalzlösung mittels Pipette oder Kapillare in ein mit Deckel versehenes Uhrglas oder Blockschälchen gebracht. Die Prüfung erfolgt makroskopisch und mikroskopisch.

c) Prüfung der Reaktion: Die Agglutination, auch bei makroskopischen Proben, ist stets durch das Mikroskop zu kontrollieren, namentlich wenn dem Serum Blutkörperchen beigemengt waren.

Die auf dem Deckglase angesetzte Probe 1 : 50 hat nur orientierenden Wert.

Sind in jedem Gesichtsfelde reichlich Häufchen selbst neben noch vereinzelt liegenden Bakterien enthalten, so ist die Reaktion als positiv zu bezeichnen.

Ist nur die Probe 1 : 50, nicht aber diejenige 1 : 100 positiv, so ist die Einsendung neuer Blutproben nach einigen Tagen zu veranlassen und der Fall so lange als verdächtig anzusehen."

Andere Verfahren.

F. Pröscher hat C. 31. 400 ein von M. Neisser stammendes Verfahren beschrieben, bei dem abgetötete Typhusbazillen zur Reaktion verwendet werden, nur kleine Mengen Serum vom Kranken, etwa 0,1 ccm erforderlich sind*), und eine größere Anzahl steigender Verdünnungen angelegt werden, so daß es damit gelingt, auch den Grenzwert des Serums zu ermitteln.

---

[1]) Die Kulturen sollen 10 bis 24 Stunden alt sein. Es empfiehlt sich, den Laboratoriumsstamm, mit dem die Probe angestellt wird, von Zeit zu Zeit zu wechseln.

*) Wenn man nur ganz geringe Mengen zugesandt erhält, dann kann man unter Verzicht auf genaue Dosierung das Blut mit der zehnfachen Menge physiologischer Kochsalzlösung verdünnen und die Blutkörperchen durch Zentrifugierung wegschaffen (C. Stäubli, MmW. 04. 2128).

Digitized by Google

Zur Blutentnahme werden U-förmig gebogene Röhrchen aus ganz dünnem Glase von etwa 2 mm äußerem Dchm. verwendet, die an den Enden ein wenig ausgezogen sind; die Länge der Schenkel richtet sich nach der zur Verfügung stehenden Laboratoriumszentrifuge. Im übrigen verfahre man nach der Reichsvorschrift*).

Den Einstich macht Pröscher mit dem Skalpell; es gibt auch eigene Instrumente, bei denen die schneidende Spitze von einer Feder vorgeschnellt wird (s. bei Blut).

Die Typhuskultur wird in Bouillon hergestellt, nach eintägigem Wachstum bei 37° durch Zugabe von 1% 40proz. Formaldehyds abgetötet und bleibt dann in einem hohen Meßzylinder 2 Tage bei 37° stehen, dabei bildet sich ein Bodensatz, von dem vorsichtig abgegossen wird. Die abgegossene Formalinbouillon hält sich im Eisschrank wochenlang gebrauchsfähig, nur muß sie jedesmal umgeschüttelt werden**).

Die Anstellung der Reaktion und die Herstellung der Verdünnungen: Die mit Blut gefüllten Kapillaren werden zentrifugiert, alsdann die mit Siegellack verschlossenen Spitzen durch einen Strich mit dem Glaserstahl abgeschnitten. Jetzt wird an jedem Kapillarschenkel an der Grenze von Blutkuchen und Serum ein Strich mit dem Stahl gezogen; an dieser Stelle werden die Röhrchen abgebrochen. Nun gießt man das Serum aus den einzelnen Röhrchen direkt in eine Meßpipette, die 1 ccm faßt, in 100 Teile geteilt ist und eine wohlerhaltene Spitze haben muß. An diese nach oben gehaltene Spitze werden die abgebrochenen Röhrchen angelegt, worauf das Serum durch Kapillarität in die Pipette fließt; sollte ein in der Ausflußöffnung der Röhrchen befindliches Luftbläschen dabei hinderlich sein, entfernt man es durch leichtes Auftupfen auf Fließpapier. Auf diese Weise wird der Inhalt aller von einem Kranken stammenden Röhrchen in die Meßpipette übergeführt. Schließlich wird an der Pipette die Menge des in ihr enthaltenen Serums abgelesen.

Hierauf gibt man in ein kleines Reagenzröhrchen (in der folgenden Tabelle mit S bezeichnet) soviel 0,8proz. Kochsalzlösung, als der 10fachen Menge des in der Pipette enthaltenen Serums entspricht; dieses wird in die Kochsalzlösung vorsichtig hineingeblasen. Nun braucht man noch 4 Pipetten von 0,5 ccm Fassungsvermögen; es eignen sich auch sogenannte Wasserpipetten von 1 ccm Inhalt, geteilt in 10 Teile. Um das Saugen mit dem Munde zu umgehen, gießt man die im nachfolgenden Schema aufgeführte Kochsalzlösung in ein größeres Reagenz-

*) Am Krankenbett verwendete Kapillaren kamen bei uns meist so ungenügend gefüllt an, daß kaum eine Reaktion anzustellen war. Als viel geeigneter hat es sich erwiesen, kleine Reagenzröhrchen 80 × 8 mm mit guten Stopfen hinauszugeben; darin erhält man genügende Mengen zugeschickt, die man nach Entfernung des Fibringerinnsels mit einem geglühten Platinhäkchen allenfalls zentrifugiert; oft ist ohnehin das Serum schon klar abgesetzt.

**) Aufgeschwemmte Agarkulturen eignen sich für Agglutinationen besser als Bouillonkulturen. Wenn man keinen größeren Vorrat nötig hat, kann man den Rasen von einem Agarröhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung aufschwemmen, behufs gefahrlosen Arbeitens die Abtötung mit einigen Tropfen Formalin vornehmen und im übrigen, wie oben angegeben, verfahren. Mit dem Fickerschen Diagnostikum ist man der Selbstherstellung und der Sorge um eine geeignete Flüssigkeit überhoben.

Digitized by Google

glas in hoher Schicht und taucht die Pipette entsprechend tief ein. Ebenso macht man es mit der formalinisierten Typhuskultur. Die Pipette II muß, wenn man das Saugen vermeiden will, nach Art einer sogenannten Giftpipette (s. Fig. 52, S. 25) konstruiert sein, d. h. man stülpt ein Glasröhrchen über, das mit einem Gummischlauch über der Pipette gleitet und oben mit dem Finger verschlossen wird. Ehe mit der Pipette III entnommen wird, muß jedesmal gut umgeschüttelt werden. Außer dem Serumröhrchen S stellt man 7 kleine Reagenzröhrchen in eine Reihe in ein eigenes passendes kleines Gestell und füllt sie gemäß folgendem Schema, wobei, wie ersichtlich, das 7. das Kontrollröhrchen ist.

Pipette	füllt ins Röhrchen Nummer						
Nr.	1	2	3	4	5	6	7
I	—	je ½ ccm 0,8prozentiger Kochsalzlösung					
II	je ½ ccm aus S	aus S					
III	je ½ ccm —	—	aus 2	aus 3	aus 4	aus 5	—
IV	je ½ ccm	mit Formalin sterilisierter Typhusbouillonkultur					
somit Verdünnung:	1 : 20	: 40	: 80	: 160	: 320	: 620	Kontrolle.

Ist die Reihe angelegt, dann gießt man jedes Röhrchen in ein mit der gleichen Nummer versehenes Blockschälchen aus. Die 7 Schälchen werden übereinandergestellt, das oberste mit einem Deckel zugedeckt und sämtliche für 1 bis 2 Stunden dem Brütschrank von 37° übergeben. Hierauf folgt Mikroskopierung mit schwachem Trockensystem, z. B. Leitz Nr. 3; man sieht übrigens die Niederschlagsbildung bereits mit bloßem Auge, namentlich wenn man die Schälchen auf eine schwarze Unterlage stellt. Treten bloß in der Verdünnung 1 : 40 krümlige Häufchen auf, dann ist das Ergebnis zweifelhaft.

Das Fickersche Typhusdiagnostikum. Hier sind nur Verdünnungen von 1 : 50 und 1 : 100 vorgeschrieben. Das Blut soll mit einem beigegebenen Schröpfkopfe entnommen werden, die Typhusflüssigkeit enthält keine lebenden Bazillen. Der Untersucher ist durch die Flüssigkeit der Mühe überhoben, die Typhusbazillenaufschwemmung selbst herzustellen, er hat stets ein gleichmäßig empfindliches Präparat, so lange es nicht zu alt ist, d. h. keine stärkere Trübung oder Flocken zeigt, und er braucht sich weder um die Reinheit noch um die Geeignetheit einer Kultur zur Anstellung der Reaktion zu kümmern.

Das Verfahren beruht auf einem ähnlichen Prinzip wie das von Neisser-Pröscher; um aber die Verwendung eines Brütschrankes und die mikroskopische Betrachtung umgehen zu können, ist die in ihrer Zusammensetzung nicht näher angegebene Flüssigkeit vom Autor (BkW. 03. 1021) so gewählt worden, daß sie die Agglutination nach 10 bis 14 bis höchstens 20 Stunden bei Zimmertemperatur erkennen läßt. Sie hält sich Monate, selbst über ein Jahr lang, auch in warmen Zeiten; sollte sie jedoch beim Schütteln nicht mehr gleichmäßig aussehen und nicht längere Zeit gleichmäßig, d. h. ohne Krümelchen bleiben, dann beziehe man eine neue Portion. K. Sadler riet, die Reaktion bei einer Temperatur von 55° (im Wasserbade) anzustellen.

Der positive Ausfall der Reaktion gibt sich durch Klärung kund,

Digitized by Google

wobei gleichzeitig infolge Verwendung von Spitzgläschen die Zusammenballung der agglutinablen Stoffe des Präparats deutlich in die Erscheinung tritt.

Bemerkungen zu den Reaktionen.

Das Fickersche Diagnostikum wird auch für Paratyphus geliefert, ferner für Rotz, was bei dieser gefährlichen Infektionskrankheit besonders wichtig ist.

Bei der Diagnosenstellung mit dem Agglutinationsverfahren muß man folgende Möglichkeiten im Auge behalten:

1. Dem Typhusbazillus nahe verwandte Bakterien können von dem Blutserum eines Typhuskranken stärker agglutiniert werden als der Typhusbazillus selbst (s. bei Paratyphus).

2. Typhusbazillen können von dem Serum mancher Typhuskranker merkwürdigerweise erst bei stärkeren Verdünnungen agglutiniert werden, während die geringeren keine Ausflockung erkennen lassen (s. S. 270). Darum soll man die Anlegung höherer Verdünnungen in keinem Falle versäumen, wo nicht schon von Anfang an Agglutination zu bemerken war.

Zur Erklärung nimmt man das Vorhandensein von Agglutinoiden an, die gegenüber den Agglutininen eine stärkere Bindungsfähigkeit an die Bakterien haben. Bei geringeren Verdünnungen besetzen sie die Bakterien zuerst, bei größeren Verdünnungen und bei Anwesenheit vieler Bakterien bleiben immer noch genug Keime übrig, um von den Agglutininen besetzt zu werden, so daß makroskopisch Agglutination in die Erscheinung tritt.

3. Typhusbazillen können von dem Serum mancher Nichttyphuskranker bis zu einem Grade agglutiniert werden, daß das Vorhandensein eines Typhus vorgetäuscht wird. Zunächst ist von den Fällen abzusehen, wo ein solcher Nichttyphuskranker früher, und sei es auch schon vor Jahren, eine Typhusinfektion durchgemacht und agglutinierende Eigenschaft des Blutes zurückbehalten hat.

Bei zwei Fällen otitischer Proteusinfektion, von denen der eine gleichzeitig mit Staphylokokken- und Streptokokkeninfektion kompliziert war, haben Lubowski und Steinberg eine agglutinierende Wirkung des Blutserums gegenüber dem Typhusbazillus bis zu 80facher Verdünnung bei mikroskopischer Untersuchung nach zweistündiger Einwirkung des Serums gefunden, die sie als Mitagglutination oder als „indirekte Agglutination" ansprachen (D. Arch. f. klin. M. 79. 376).

Bei zwei Fällen Weilscher Krankheit ist von Th. Eckardt ein sogar recht erheblicher Agglutinationswert des Blutserums gegen Typhusbazillen beobachtet worden. Indessen haben andere Untersucher eine derartige auffallende Erscheinung nicht wahrnehmen können (s. Steinberg, MmW. 04. 469). H. Kämmerer erhielt bei der Prüfung des Blutes von 50 Ikterischen zumeist negative Ergebnisse, nur einmal einen Agglutinationswert 1 : 75 und nur zweimal 1 : 40. Er hält Agglutinationen von 1 : 100, wie sie ja auch die Reichsvorschrift verlangt, für Typhus für nahezu beweisend, vorausgesetzt, daß man geeignete, d. h. sicher reine und frische Typhuskulturen benutzt; in dieser Hinsicht empfiehlt er das Fickersche Diagnostikum, weil es eine gleichartige Methodik gewährleistet (BkW. 04. 699).

Agglutination bei Pest.

Um auch noch die Agglutinationsprobe mit einer Bakterienart ohne Eigenbewegung zu beschreiben, sei die Vorschrift aus der „An-

Digitized by Google

weisung zur Bekämpfung der Pest", festgestellt in der Sitzung des Bundesrats vom 3. Juli 1902 (Berlin bei J. Springer, S. 53), wiedergegeben:

„1. Zur Bestimmung einer gezüchteten Kultur:

Wirksames Serum immunisierter Tiere wird in den entsprechenden Verdünnungen zu einer frisch bereiteten, möglichst homogenen Aufschwemmung 2tägiger Agarkulturen in Bouillon oder Kochsalzlösung hinzugefügt. Die Beobachtung der eintretenden Agglutination erfolgt am besten in kleinen Reagenzgläschen mit Hilfe der Lupe. Es empfiehlt sich, die Probe mit dem Serum gut durchzuschütteln und dann bei Bruttemperatur ½ Stunde lang ruhig stehen zu lassen. Positiver Ausfall der Reaktion — an dem Auftreten zu Boden sinkender Flöckchen mit Klärung der überstehenden Flüssigkeit erkennbar — spricht mit größter Wahrscheinlichkeit für Pestbazillen.

2. Zur Prüfung des Blutserums eines unter verdächtigen Erscheinungen erkrankt gewesenen Menschen:

In Verdünnung des Serums 1 : 1, 1 : 2, 1 : 5, 1 : 10 in 0,6proz. Kochsalzlösung wird je eine Oese einer 2tägigen Agarkultur von Pestbazillen auf 1 ccm der Serummischung gut verteilt und gut umgeschüttelt. Die so hergestellten Proben werden, wie bei 1 angegeben, weiter behandelt. Tritt makroskopisch sichtbare Agglutination auf, so handelt es sich mit größter Wahrscheinlichkeit um einen abgelaufenen, in Rekonvaleszenz befindlichen Pestfall. Ein negativer Ausfall der Probe spricht nicht gegen die Diagnose Pest."

Zu dieser Vorschrift ist noch zu bemerken, daß die Verteilung der Bakterien mit einer geeigneten, nicht zu schwachen und nicht zu starken Oese an der Wand des Reagenzglases sehr sorgfältig geschehen muß; man bringt etwas Kulturmasse oberhalb der Flüssigkeit an die Glaswand und verreibt sie mit einem heraufgeholten Tröpfchen; dies wird ziemlich lange fortgesetzt, weil in der Flüssigkeit durchaus keine gröberen Flöckchen sein dürfen.

Präzipitation.

Die Erscheinung der Präzipitation ist ähnlich wie die der Agglutination. Beide Male treten nach entsprechender Vorbehandlung von Tieren im Blutserum spezifisch wirkende Stoffe auf, die hier als Präzipitine, dort als Agglutinine bezeichnet, Ausfällung der Substanzen bewirken, mit denen die Tiere vorbehandelt waren. Während aber bei der Agglutination körperliche Elemente (Bakterien, Blutkörperchen) eingespritzt und von dem Serum danach zu Haufen verklumpt werden, handelt es sich bei der Präzipitation um Einführung gelöster Stoffe, und zwar sind es ausschließlich gelöste Eiweißstoffe, deren Einführung bewirkt, daß dieselben Eiweiße vom Serum ausgefällt oder präzipitiert werden. Mit anderen Stoffen gelingt die Erzeugung von Präzipitinen nicht, nicht einmal mit Leim.

Die ersten spezifischen Niederschläge wurden von R. Kraus in keimfreien Filtraten von Cholera-, Typhus- und Pestkulturen durch Serum damit vorbehandelter Tiere erzeugt (WkW. 97. 737). Die Er-

Digitized by Google

scheinung ist seitdem viel studiert worden. Große praktische Bedeutung hat die Reaktion durch Verwendung zum Nachweis tierischen Eiweißes gewonnen, bei dem sie zuerst von V. Tchistowitch und J. Bordet durch Einspritzungen von Pferdeblutserum und defibriniertem Hühnerblut erhalten wurden. Bordet gewann ferner durch Vorbehandlung von Tieren mit Kuhmilch das unter dem Namen Laktoserum bekannte Präzipitin für die Eiweißkörper der Kuhmilch, A. Wassermann schlug dann auf Grund seiner mit A. Schütze angestellten Untersuchungen vor, die Präzipitine als Reagens für die Eiweißdifferenzierung zu gebrauchen.

Hierauf haben Uhlenhuth und fast gleichzeitig Wassermann und Schütze diese Methode zum forensischen Nachweis von Blut angewendet und veröffentlicht; Uhlenhuth hat seitdem den gerichtlichen Blutnachweis weiter ausgearbeitet. Man führt ihn jetzt allgemein aus, wenn es sich um die Frage handelt, ob Blut vom Menschen oder vom Tiere und von welcher Tierart es stammt. Das Verfahren hat außerdem zum Nachweis von Sperma gedient, ferner zur Unterscheidung der verschiedensten Eiweiße pflanzlicher und tierischer Herkunft, es hat endlich in der Nahrungsmitteluntersuchung Verwertung gefunden, so zur Differenzierung von Muskelfleisch des Pferdes und anderer Schlachttiere, auch von Knochen, vorausgesetzt, daß sich noch lösliches Eiweiß an ihnen fand, von Hühnereiklar und Eidotter, von Albumin und Kasein u. s. w.*).

Auch bei den Präzipitinen gibt es Haupt- und Nebenpräzipitine. Hochwertiges Immunserum, das durch Menschenblut erzeugt ist, reagiert, wie Wassermann und Schütze gezeigt haben, auf Affenblut, ja auf jedes Säugetierblut, wenn auch nur schwach, nicht aber auf Vogelblut (Nutall), im allgemeinen umso schwächer, je entfernter die Stammesverwandtschaft ist. Die Zurückdrängung der Nebenpräzipitine gelang teilweise durch Verdünnung des Serums, vollkommener durch Absättigung. W. Weichardt hat Menschenantiblutserum, das auf Affenblut reagiert, wiederholt mit dem zehnten Teil Affenserum versetzt, jedesmal vom entstandenen Niederschlage abfiltriert und dann nur noch die Reaktion auf Menschenblut erhalten; er hat ferner gefunden, daß selbst das Blut zweier Menschen durch die Absättigungsmethode diagnostisch unterschieden werden kann: Wenn man mit Blut von einem Individuum A Kaninchen vorbehandelte, gaben sie ein Serum, das, wie zu erwarten war, auch das Blutserum eines anderen Individuums B präzipitierte; wenn aber das Kaninchenserum wiederholt mit Serum vom Individuum B versetzt und der Niederschlag abfiltriert worden war, blieb ein Serum, das schließlich auf B kaum mehr reagierte, in dem Blutserum des Individuums A jedoch noch deutliche Präzipitationserscheinung hervorrief (Vjhrschr. f. ger. Med. 29. 19 und HR. 03. 756).

Die Kaninchen werden intraperitoneal oder intravenös mit den verschiedenen Eiweißarten oder Blutseris vorbehandelt. Menschliches Blutserum läßt sich am einfachsten aus frischen Leichen gewinnen (s. das Verfahren von G. Hauser, S. 99).

---

*) Uhlenhuth, Zur Lehre von der Unterscheidung verschiedener Eiweißarten mit Hilfe spezifischer Sera. Festschrift zum 60. Geburtstage von Robert Koch. Jena bei G. Fischer 1903.

Digitized by Google

Die Menge, die davon einem Kaninchen eingespritzt wird, nehmen die verschiedenen Autoren verschieden groß, H. Schur und Halberstamm erzielten bereits Erfolg mit einmaliger intravenöser Einführung von 5 ccm Serum und ein sehr kräftiges Präzipitinserum, als 1 Monat später nochmals 5 ccm in der gleichen Weise eingespritzt worden waren (Hdb. d. path. Mikr. 4. 637).

Das zu untersuchende Blut wird, wenn eingetrocknet, in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst und im Verhältnis von 1 : 30 mit dem Serum des vorbehandelten Tieres versetzt. Man muß mehrere Kaninchen haben, die mit Blutarten verschiedener Tiere (Schweine, Hammel, Gänse u. s. w.) vorbehandelt worden sind, um bei negativem Ausfall der Probe auf Menschenblut womöglich die betreffende Tierblutart feststellen zu können. Auch die mikroskopische und chemische Untersuchung, ob es sich überhaupt um Blut handelt, darf nicht unterlassen werden.

E. Jacobsthal schlug vor, Sera (präzipitierende wie agglutinierende) angetrocknet an Filtrierpapier aufzubewahren. Geeignet erwies sich die Papiernummer 571 von Schleicher & Schüll. Man läßt auf ein Scheibchen je einen Serumtropfen, dessen Volum genau bekannt sein muß, fallen, sich auf dem hohlliegenden Papier ausbreiten und im Trockenschrank bei 37 bis 65° trocknen. Zur Dosierung werden aus dem Kreise Sektoren bestimmter Größe ausgeschnitten. Die Verdünnungen legt man derart an, daß, wenn z. B. das Volum des Serumtropfens 0,045 ccm betragen hatte, das Papierstückchen in 4,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung eingelegt wird, wodurch eine Verdünnung von 1 : 100 erhalten wird. Nach 1½ Stunden ist alles Serum gelöst (AfH. 48. 207).

Desinfektion.

Unter Desinfektion versteht man die Beseitigung der Keime durch Abtötung. Von diesem Begriff ist der der Entwicklungshemmung scharf zu trennen; bei ihr wird nur erreicht, daß die vorhandenen Keime nicht auswachsen.

Eine Desinfektion kann vorgetäuscht werden, wenn es gelingt, von stinkenden Fäulnisgemischen den Geruch zu beseitigen oder durch einen anderen zu verdrängen, also durch Desodorisation; ja manche meinen, wenn es nach einem Desinfektionsmittel riecht, sei das schon genügend; der Geruch nach Chlor, Phenol, Kresolverbindungen und ähnlichen, z. B. in Aborten, kann natürlich keinen Anhalt geben, daß desinfektorisch irgend etwas erreicht worden wäre. Der unerträgliche Geruch der schwefligen Säure oder des Formalins in Räumen, wo diese Dämpfe erzeugt worden sind, gibt keinerlei Gewähr, daß die Krankheitserreger abgetötet sind, auch nicht, wenn man das Gas stundenlang hat wirken lassen, denn die Mikroorganismen sterben erst bei höheren Konzentrationen der Desinfektionsmittel ab, als sie der menschliche Körper zu ertragen vermag.

Bei der Absicht, Inhalt von Jauchebehältern oder Gruben zu desinfizieren, ist ebenfalls vielfach nur Desodorisation angewendet worden. Jauche läßt sich mit Chemikalien überhaupt nicht keimfrei machen. Immerhin kann z. B. durch Eingießen von Kalkmilch, hergestellt aus einem Raumteil gelöschten Kalks auf 4 Teile Wasser, die täglich durch jeden Abortsitz eingegossen wird, bis zu einem gewissen Grade eine Abtötung oder wenigstens eine Entwicklungshemmung etwa hineingelangter Typhus- oder Cholerakeime auf billige Weise erzielt werden. Mehrt sich die Flüssigkeitsmenge in den Gruben, dann wird die

Digitized by Google

Wirkung der Kalkmilch auf den Inhalt immer unsicherer. (L. Heim, San.-Ber. über die k. bayr. Armee 1893, Anhang S. 80.)

Desinfektionsversuche pflegen wir entweder zur Prüfung der Widerstandsfähigkeit von Bakterien oder ihrer Sporen gegenüber bekannten Desinfektionsmitteln (Arbeiten zum Studium der Lebenseigenschaften der Bakterien) anzustellen, oder um Aufschluß über die Leistungsfähigkeit gewisser Mittel gegenüber Bakterien mit bekannter Widerständigkeit zu erhalten.

Für die praktische Verwertung der im Versuch gewonnenen Erfahrungen bietet sich uns eine stattliche Reihe verschiedener wirksamer Stoffe; das eine Mittel eignet sich besser in diesem, das andere in jenem Falle. Wir müssen ähnlich wie bei der Verwendung von Arzneimitteln bei Kranken individualisieren.

Es kommt dabei einmal auf die besonderen Eigenschaften und die größere oder geringere Widerständigkeit der Kleinwesen an, wir werden z. B. anders bei der Vernichtung der Tuberkelbazillen vorgehen, wie bei der der Choleravibrionen; außerdem auf die Art des zu desinfizierenden Gegenstandes; ein Desinfektionsmittel eignet sich nicht für alle, Dampf z. B. niemals für Lederwaren; ferner auf den Sitz und die Lage der zu bekämpfenden Ansteckungstoffe, ob sie leicht, schwer oder überhaupt nicht erreichbar sind, z. B. von feuchter Hitze innerhalb schlechter Wärmeleiter oder wenig poröser Stoffe, oder ob sie von Eiweiß, Schleim und anderen Dingen umgeben sind, die gewissen Chemikalien den Durchtritt erschweren oder unmöglich machen. Je besser ein Desinfektionsmittel die Umgebung der Bakterien, die sich oft aus Schmutz aller Art, Fett u. dergl. zusammensetzt, aufzuschließen vermag, desto geeigneter ist es zur Anwendung. Wir müssen aber auch den Mitteln selbst den Weg ebnen, indem wir für die Entfernung solcher Schmutzstoffe durch gründliche mechanische Reinigung sorgen, die der Desinfektion, wo nur immer möglich, vorangeschickt werden soll: z. B. durch tüchtige Abbürstung mit warmem Seifenwasser oder heißer Sodalösung. Endlich spielt der Preis des Desinfektionsmittels für die Praxis eine wesentliche Rolle; bei gleich stark wirkenden Mitteln wird man im allgemeinen dem billigeren den Vorzug geben.

Vorbereitung des Bakterienmaterials. Milzbrandsporen werden gewöhnlich als Vertreter der sporentragenden, Staphylococcus pyog. aur. als widerstandsfähigste Art unter den nicht sporenbildenden genommen und entweder in Flüssigkeiten aufgeschwemmt oder in angetrocknetem Zustande der Wirkung des Mittels ausgesetzt; in letzterem Falle benutzt man Seidenfäden oder Granaten, jene hauptsächlich zur Dampfdesinfektion, diese vornehmlich zur Prüfung von Chemikalien.

Für die Prüfung von Apparaten zur Desinfektion von Tierhaaren hat man Milzbrandsporen an solche angetrocknet; Proskauer und Elsner haben beobachtet, daß die Sporen an Tierhaaren dem Dampfe länger widerstanden, als an Seidenfäden haftende (ZfH. 43. 493). Die vorgängige Sterilisierung jener Haare muß besonders sorgsam geschehen, weil an ihnen gewöhnlich sehr widerstandsfähige Sporen haften; man behandelt sie entweder 5 Stunden im strömenden Dampf

Digitized by Google

oder 1 Stunde im Autoklaven bei 1 bis 2 Atmosphären Ueberdruck und prüft sie danach auf Keimfreiheit.

Seidenfäden sind seit den ersten Desinfektionsversuchen von R. Koch in Gebrauch. Man wählt solche mittlerer Dicke, etwa Turner Seide Nr. 4 oder 5, schneidet sie in ungefähr 1 cm lange oder etwas längere Stücke und sterilisiert sie in einem mit Watte verschlossenen Reagenzglase trocken ½ Stunde bei 160°.

Die Kulturen legt man meist auf schräg erstarrtem Agar an. Gelatine oder Kartoffeln nimmt man nur, wenn sie für das Gedeihen einer besonders gewählten Bakterienart bessere Bedingungen geben. Sie sollen bei der zusagendsten Wärme gezüchtet und gut entwickelt sein. Bei Sporenbildnern kommt das Alter in Betracht; die einen Arten liefern die widerstandsfähigsten Sporen schon in wenigen Tagen, andere erst nach Wochen (s. S. 191).

Tränkung der Fäden. Nachdem der Wattestopfen des Kulturröhrchens mit einer Cornetschen Pinzette herausgedreht und mit ihr beiseite gelegt ist, wird der Rand in der Flamme von anhängenden Wattefasern befreit. Dann nimmt man das Röhrchen mit den sterilen Fäden, entfernt den Wattestopfen in ähnlicher Weise, sengt ebenfalls den Rand leicht ab und befördert durch leichtes Aufklopfen mit dem Zeigefinger soviel Seidenfäden als man braucht (etwa 20 bis 50 Stück) in das Kulturröhrchen. Nachdem das Vorratsglas mit dem Stopfen wieder verschlossen und weggesetzt worden ist, wälzt man die im Kulturröhrchen befindlichen Seidenfäden mittels eines stärkeren, hakenförmig umgebogenen Platindrahtes im Rasen und befördert sie nach genügender Durchtränkung zu einem Haufen in den oberen Abschnitt des Glases. Statt des Drahtes nimmt man nun eine sterile Pinzette und überträgt mit ihr die Fäden in ein sterilisiertes Petrischälchen derart, daß der Weg möglichst kurz ist, d. h. das Röhrchen wird dabei unmittelbar über das Schälchen gehalten, damit etwa abfallende Fäden gleich an ihren Bestimmungsort gelangen. Das Kulturröhrchen wird nun mit seinem Wattestopfen versehen und weggestellt. Die Fäden verteilt man mit der Pinzette und einem sterilisierten Platinhaken oder mit zwei geglühten und wieder erkalteten Pinzetten einzeln so im Schälchen, daß sie mindestens ½ cm voneinander entfernt und nicht mehr naß liegen.

Bei diesem Vorgehen werden die Fäden allerdings nicht ganz gleichmäßig mit den Keimen überzogen und getränkt. Wenn möglichst gleichviel Keime an sie kommen sollen, tränkt man sie mit einer Aufschwemmung in steriler 0,8proz. Kochsalzlösung, die zur Beseitigung gröberer Bakterienklümpchen zuvor durch ein sterilisiertes Papierfilter geschickt worden ist. In diesem Falle kann man 2 bis 3 cm lange Fäden nehmen; sie bleiben etwa 30 Minuten in der Aufschwemmung liegen, werden zunächst auf sterilem Filtrierpapier von der überschüssigen Flüssigkeit befreit (Vorsicht, daß nichts auf die Unterlage durchsickert!), und einzeln in ein Schälchen zum Trocknen gelegt.

Das Schälchen wird ohne Deckel mit unten aufgeklebter Etikette in einen Exsikkator über Chlorcalcium oder Phosphorsäureanhydrid gestellt und darin zum Gebrauche aufbewahrt. Am andern Tage sind die Fäden trocken. Streng genommen soll nun der Desinfektionsver-

Digitized by Google

such alsbald angeschlossen werden. Denn frisch getrocknetes Material ist — wenigstens hat dies K. Kokubo an Milzbrandsporen gezeigt (C. 34. 727) — etwas widerstandsfähiger als älteres. Für die Praxis wird eine kleine Beeinträchtigung nichts schaden, man muß ohnehin durch einen Kontrollversuch jedesmal die Resistenz feststellen.

Bei der Herausnahme der getrockneten Fäden aus dem Petrischälchen ist besondere Vorsicht geboten, denn die Fäden kleben an der Unterlage und springen beim Wegnehmen leicht fort; man stelle zur Sicherheit das Schälchen in eine größere Abdampfschale; sollte trotzdem einer darüber hinaus auf den Tisch gelangen, so ist er alsbald zu suchen, mit der Pinzette zu fassen und zu verbrennen, die Stelle aber mit der Flamme abzusengen oder mit einem feuchten Sublimatwattebausch zu bedecken.

Für längere Aufbewahrung überträgt man die Fäden in Reagenzröhrchen, wie Fig. 196, S. 285 dargestellt ist. Die Aufbewahrung geschehe im Dunkeln.

Man kann auch die imprägnierten Fäden zu 2 bis 5 Stück in Säckchen von Filtrierpapier, nach Art der Pulverkapseln gefaltet, verteilen und die Briefchen zusammen in einen Exsikkator legen (Name, Alter und Herkunft der Kultur, sowie Datum darauf schreiben!).

Andere Verfahren. R. Fischl hat bei Versuchen mit dem Soorpilz die Fäden nach 2 bis 3 Minuten langem Aufenthalt in einer Aufschwemmung der Keime auf schrägen Agar übertragen, dann dem Brütschrank übergeben und nach erfolgtem Wachstum verwendet (FdM. 5. 665); W. v. Lingelsheim ließ sie 24 bis 36 Stunden in dem Bodensatze einer Bouillonkultur (von Streptokokken) liegen, nachdem die überstehende Flüssigkeit abpipettiert war. Damit erhält man Seidenfäden, die von Keimen förmlich durchwachsen sind. Das Verfahren empfiehlt sich nur für bestimmte Fälle, denn die Keime sind dem Einflusse des zu prüfenden Mittels zum Teil entzogen.

Granaten sind für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel von Krönig und Paul*) zum Ersatz der Seidenfäden eingeführt worden, um beim Versuch eine möglichst gleich große Anzahl von Keimen in oberflächlicher Lage zu haben. Sie müssen annähernd gleich große, saubere Oberfläche besitzen und werden deshalb mittels eines Siebes ausgelesen, das auf 1 qcm 9 Maschen besitzt, wiederholt mit verdünnter roher Salzsäure (1 + 3 Wasser) ausgekocht, anhaltend mit Wasser geschüttelt, bis es vollkommen klar abläuft, dann mit Alkohol, Aether und wiederum Alkohol unter Umschütteln gewaschen, mit destilliertem Wasser gespült, an einem staubfreien Orte getrocknet und schließlich in einem Erlenmeyerschen Kölbchen durch halbstündige Erhitzung auf 200° sterilisiert.

Die wäßrige Aufschwemmung der Bakterien (meist Staphylokokken oder Milzbrandsporen), mit denen diese Granaten zusammengebracht werden, stellt man mit 2 oder 3 Tage alten, im Brütschranke bei zusagendster Wärme gezüchteten Kulturen in der Weise her, daß

*) B. Krönig und Th. Paul, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion; ZfH. 25. 1.

Digitized by Google

man 2 bis 3 Tropfen sterilen destillierten Wassers über die Oberfläche der Kultur laufen läßt, den Bakterienbelag mittels steriler Platinöse mit dem Wasser verreibt und den so erhaltenen dünnen Brei mit ein wenig Wasser in einen Schüttelzylinder spült, wobei sorgfältig darauf zu achten ist, daß möglichst wenig vom Nährboden in die Emulsion gelangt. Nachdem die Bakterienaufschwemmung auf das gewünschte Volum verdünnt worden ist, schüttelt man einige Minuten gut durch und filtriert durch ein im Dampfapparat auf dem Glastrichter sterilisiertes und kurz vorher mit sterilem Wasser angefeuchtetes Filter. Alle zu diesen Arbeiten verwendeten Dinge müssen richtig sterilisiert sein.

Mit dieser Aufschwemmung werden die Granaten in einem Schüttelzylinder geschüttelt, worauf man die überschüssige Flüssigkeit auf einem enghalsigen Trichter, der mit einer flachen Schale bedeckt ist, gut abtropfen läßt. Zur Trocknung werden sie auf ein Nickeldrahtnetz übertragen, das man in ein größeres als Exsikkator dienendes Gefäß (von Paul ist ein besonderer Apparat angegeben) auf einen Einsatz legt, unter dem sich gekörntes, entwässertes Chlorcalcium befindet. Während des Trocknens, das 12 Stunden in Anspruch nimmt, wird der Apparat in den Eisschrank gestellt, damit die Sporen in dem anhaftenden Wasser nicht zu vegetativen Zellen auswachsen können.

Die Aufbewahrung der so zubereiteten Granaten kann im Exsikkator bei Zimmertemperatur geschehen, oder man überträgt sie in mehrere kleine Reagenzgläser, die in ebensoviele größere Reagenzgläser über Chlorcalcium unter Gummikappenverschluß eingestellt werden, wie im nachfolgenden Kapitel beschrieben ist.

Austrocknung.

Manche Bakterienarten gehen dabei in kurzer Zeit zu Grunde, die meisten halten sich aber ziemlich lange, so daß man das Austrocknungsverfahren geradezu als Konservierungsmittel verwenden kann.

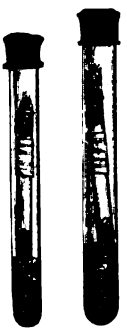
Die zahlreichen Untersuchungen vieler Forscher lieferten nicht bloß bei verschiedenen Bakterienarten, sondern auch bei denselben Arten verschiedene Ergebnisse (eine ausführliche Zusammenstellung der Arbeiten bis 1898 findet sich bei M. Ficker, ZfH. 29. 2). Das hatte seinen Grund teils in der Verwendung des Materials, an das die Keime angetrocknet waren, wie Glas, Zeugstücke, Wolle, Baumwolle, Seide, Staub, teils in der Dicke und Beschaffenheit der Schicht (in dünner und eiweißarmer gehen die Keime eher zu Grunde), hauptsächlich aber darin, daß die Proben meistens nicht im Exsikkator gehalten wurden; denn fast durchweg kann man beobachten, daß sich die Keime im Exsikkator länger halten als bei Luftzutritt. Dabei ist das Austrocknungsmittel nicht gleichgültig; F. Kirstein hat hervorgehoben, daß Schwefelsäure ungünstigere Bedingungen schaffe, während dies bei Chlorcalcium und Phosphorpentoxyd nicht zu befürchten sei (ZfH. 39. 166).

Der Wechsel der relativen Feuchtigkeit ist meines Erachtens das hauptsächlich Schädigende beim Liegenlassen an der Luft; denn man kann beobachten, daß empfindlichere im Exsikkator auf-

Digitized by Google

bewahrte Keime, wie Pneumoniekokken, noch lange leben bleiben, auch wenn die genannten Trocknungsmittel schon feucht geworden sind. Manche Bakterien ertragen allerdings die Austrocknung nur kurze Zeit, so sind z. B. Choleravibrionen meist schon in der 1. oder 2. Woche, Hühnercholerabazillen in der 3. oder 4. Woche tot; aber sehr viele andere, die man teilweise sogar als recht hinfällig in Kulturen kennt, halten sich Monate und Jahre; so stirbt der Pneumoniekokkus bei Luftzutritt schon in wenig Tagen ab, über Chlorcalcium dagegen kann er sich bis zu einem Jahre, ja mitunter noch etwas länger halten. Ich habe einige sporenfreie Bakterienarten insbesondere in eiweißhaltigen Flüssigkeiten, wie Blut, Eiter und dergl., über 3 Jahre lebend und ohne Verminderung ihrer Virulenz bewahrt, denen man bis dahin durchaus keine so lange Lebensdauer in trockenem Zustande zuerkannt hatte, z. B. den Micrococc. tetragenus.

Fig. 196.



Diese Eigenschaft der meisten Bakterien läßt sich mit Erfolg zur Aufbewahrung von Organsäften und Körperflüssigkeiten im Seuchendienste und zu gerichtlich-medizinischen Zwecken benutzen. Man braucht nur mit einer sterilen Pinzette sterile Seidenfäden in Blut, Eiter, Organsaft, Ausschwitzungen, Harn, Kot tauchen und in ein steriles Gläschen zu legen, auf dessen Boden sich etwas Chlorcalcium und darüber ein Wattebausch befindet. Die Seidenfäden werden an der Glaswand oder auf dem Wattebausch niedergelegt; sie trocknen, wenn man eine Gummikappe übergezogen hat, bald aus. In diesem Zustande lassen sie sich versenden und liefern noch nach Tagen oder Monaten Kulturen wie das frische Material.

Im Laboratorium trifft man die Anordnung besser in der Art, daß man die getränkten Seidenfäden erst in einem sterilen Petrischälchen oder auf einem solchen Objektträger im Exsikkator trocknen läßt; dann überträgt man sie für längere Aufbewahrung in ein etwa 80 mm langes, 8 mm weites steriles Reagenzgläschen, das mit Wattestopfen versehen ist; dieses wird in ein gewöhnliches Reagenzglas, das nicht sterilisiert zu sein braucht, gestellt, und zwar auf einen Wattebausch, unter dem sich etwa 2 cm hoch Chlorcalcium befindet. Eine Gummikappe hält den Zutritt der feuchten Luft ab (Fig. 196). Die Aufbewahrung geschehe im Dunkeln. Nach und nach sterben die Keime ab, wahrscheinlich fortschreitend von den oberflächlichen Stellen nach den tiefergelegenen (L. Heim, ZfH. 50. 123; s. a. S. 283, Abs. 4).

Hitze.

Wertlose Dinge werden verbrannt, unverbrennliche glüht man in der Flamme oder sengt sie ab. Gegenstände, die durch das Glühen leiden, sterilisiert man mit trockener oder feuchter Hitze.

Trockene heiße Luft muß wenigstens 160° haben und 30 Minuten wirken. Stoffe aus Tier- oder Pflanzenfasern werden dabei angesengt. Flüssigkeiten können selbstverständlich ebenfalls nicht so behandelt werden, es eignen sich überhaupt nur trockene Sachen aus

Digitized by Google

Glas oder Metall für diese Art der Keimfreimachung, höchstens noch Seidenfäden oder Wattestopfen in Reagenzgläsern. Trockene Hitze ist demnach bloß für bestimmte Laboratoriumszwecke anwendbar (s. S. 64 f.), niemals für die Praxis.

Feuchte Hitze kann in Form von kochendem Wasser oder strömendem oder gespanntem Dampf verwendet werden. Diese drei sind durchaus nicht gleichwertig in der Wirkung.

Auskochen im Wasser steht der Behandlung mit Dampf wesentlich nach. Das ist durch folgende Versuche von Kübler erwiesen (KGA. Arb. 15. 456):

Er nahm Sporen verschiedener Widerstandsfähigkeit, hauptsächlich solche, die in strömendem Dampf erst nach 10¼ Minuten abgetötet werden konnten, nebenbei auch welche (wie sie viel häufiger sind), die im strömenden Dampf schon innerhalb 1 Minute und 25 Sekunden abgetötet wurden. Diese gingen im kochenden Wasser ihrer Entwicklungsfähigkeit bereits nach 5 Minuten verlustig; ganz anders waren die Ergebnisse mit den hitzebeständigeren Sporen. Mit ihnen wurden zahlreiche vorher sterilisierte Borsten und Seidenfäden imprägniert. Nach dem Antrocknen der sporenhaltigen Bouillon wurden einige Borsten in ein kleines steriles Leinwandsäckchen gelegt, dieses gekniffen und in den Kniff von außen zwei sporenhaltige Seidenfäden gebracht. Darauf wurde der Leinwandsack mit dünnem Blumendraht locker umwickelt, mit einer Anzahl steriler Borsten umhüllt und mit diesen durch nochmalige Drahtumwicklung zu einem Päckchen vereinigt.

In solchen Päckchen wurden die Milzbrandsporen in einer Reihe von Versuchen durch ¼stündiges Kochen vernichtet.

In einzelnen Fällen entwickelten sich aus den Borsten nach ½stündiger Einwirkung des kochenden Wassers in Bouillon noch Milzbrandkulturen.

Auch bei Anwendung eines sogenannten Dampfkataraktkochtopfes waren die Ergebnisse nicht besser. In diesem Apparat drängt bei geschlossenem Deckel der sich entwickelnde Dampf das Wasser in Röhren, die vom Boden des Gefäßes aus an den Seitenwänden aufsteigen und dicht unterhalb des Deckels geöffnet sind; das heiße Wasser ergießt sich von oben her in den Topf zurück, so daß immer neue Wassermengen mit dem erhitzten Boden des Gefäßes in Berührung kommen, die Erwärmung des Wassers also gleichmäßiger vor sich geht und unter der Wirkung des Dampfdrucks auch höhere Grade erreicht als in gewöhnlichen offenen Kochgefäßen.

In einem solchen Kataraktkochtopf hat Kübler 49 Proben mit sporenhaltigen Borsten und Seidenfäden dem Kochen für verschieden lange Zeit ausgesetzt; das Ergebnis war:

43 waren von Milzbrandkeimen frei, darunter 11, die nur ¼ Stunde gekocht waren;
6 enthielten noch keimfähige Milzbrandsporen; in
2 Fällen hatten sogar die auf der Außenseite eines Bündels angebrachten Sporen in der Mitte des Topfes ein 2 Stunden dauerndes Kochen ausgehalten.

Aus Sporen, welche 3 Stunden gekocht waren, gelang es nicht mehr, Milzbrandkeime zur Entwicklung zu bringen.

Kübler begnügte sich mit der Aufführung dieser interessanten Ergebnisse, ohne theoretische Folgerungen daran zu knüpfen. Nachdem man unterdessen mehr und mehr gelernt hat, welchen hindernden Einfluß das Vorhandensein von Luft auf die Dampfwirkung hat, kann man heute eine Erklärung versuchen. Man kann sich vorstellen, daß die aus dem Innern der angefertigten Borstenbündel ausgetriebene Luft, wenn auch in kleinsten Bläschen, an den an der Außenseite des Bündels haftenden Proben hängen geblieben, und durch die in der Mitte des Topfes ziemlich fehlende sprudelnde Bewegung des Wassers nicht weiter verdrängt worden ist.

Die überlebenden Sporen wurden auf ihre Wirksamkeit dem Tier gegenüber geprüft; bei den meisten Impfungen, die mit Milzbrandkulturen aus den gekochten Sporen gemacht worden waren, verzögerte sich der tödliche Ausgang bis zum 4. oder 5. Tage.

Digitized by Google

Zwei Mäuse, die mit Kulturen aus 2 Stunden gekochten an Borsten angetrocknet gewesenen Sporen geimpft wurden, ertrugen den Eingriff ohne zu erkranken.

Zwei Mäuse, die mit Kulturen aus 2 Stunden gekochten, an Seidenfäden angetrockneten Sporen geimpft wurden, starben schon nach 1¾ Tagen an Milzbrand.

Daraus zu schließen, wie es Kübler getan hat, daß die Sporen durch das Kochen an Virulenz abgeschwächt waren, ist meines Erachtens nicht zulässig, weil gerade die am längsten gekochten Sporen die geringste Einbuße an Virulenz gezeigt haben; und daß die zwei mit Borstenmaterial geimpften Mäuse am Leben blieben, kann ebenfalls keinen stringenten Beweis liefern, denn auch unmittelbar aus dem Tierkörper stammende Kulturen können versagen, wie ich einmal beobachtet habe (s. ZfH. 50. 134).

Wenn wir im Laboratorium Gebrauchsgegenstände mit siedendem Wasser behandeln, pflegen wir ihm Soda (ungefähr 1 ¼ %) zuzusetzen. Sicherheitshalber kochen wir bloß Gegenstände mit sporenfreiem Material aus, mit Sporen in Berührung gekommene Dinge werden entweder im Ofen verbrannt oder mit strömendem oder mit gespanntem Dampf behandelt.

Strömender Dampf unter gewöhnlichem Atmosphärendruck genügt für kleinere oder mittelgroße Apparate, aber schon im Laboratorium und zu chirurgischen Zwecken bedient man sich eines Apparates mit gespanntem Dampf von 1 bis 2 Atmosphären Ueberdruck, und zwar arbeiten die neueren Apparate mit strömendem gespanntem Dampf (s. S. 65 ff.).

Gespannter Dampf von mehr als 0,5 Atmosphären Ueberdruck wird nur in kleineren Apparaten des Laboratoriums verwendet, bei größeren Apparaten in der Praxis nicht, denn diese würden dann zu kostspielig werden, müßten auf Druck geprüft und deshalb sehr kräftig gebaut sein; außerdem unterliegen solche Dampfkessel der polizeilichen Konzession, erfordern geübte Bedienung und sind der Revision und gewissen Beschränkungen hinsichtlich der Aufstellung unterworfen.

Ueberhitzter Dampf eignet sich nicht zur Desinfektion, denn er ist zu wenig gesättigt. Zur wirksamen Desinfektion kann man nur vollkommen oder wenigstens nahezu gesättigten Wasserdampf gebrauchen; nach M. Rubner darf die Unreinheit des Dampfes an Luft 10 % Luftbeimengung nicht sehr überschreiten (AfH. 56. 212). Die Ueberhitzung kommt bei einigen Systemen dadurch zustande, daß ins Innere des Apparates Rippenheizkörper eingebaut werden, die durch höher gespannten Dampf auf eine höhere Temperatur gebracht werden, als sie der einströmende Dampf besitzt. Derartige Apparate wirken niemals zuverlässig, wie Proskauer und Conradi (ZfH. 40. 134) durch Prüfungsversuche nachgewiesen haben.

E. v. Esmarch hatte schon früher in einen Desinfektionsapparat, der mit überhitztem Dampf arbeitete, eingerollte Flanelldecken und Päckchen mit Milzbrandsporen gebracht. Einige von ihnen befanden sich im Innern der gehörig verschnürten Deckenbündel, andere an der Außenseite. Nach abgelaufener Desinfektionszeit zeigten die Maximumthermometer im Innern der Decken 99, 100 und 101°, die an ihrer Außenseite befestigten 105, 109, 118, 128 und 141°. Die Milzbrandsporen im Innern der Decken waren tot, die an der Außenseite, wo die weit höheren Wärmegrade gemessen worden waren, enthielten noch lebende Keime (ZfH. 4. 398).

Digitized by Google

Ueberhitzter Dampf kann, wie M. Rubner gefunden und gezeigt hat, selbst wenn der Dampf gesättigt dem Apparat zugeströmt ist, im Inneren von hygroskopischen Stoffen vorhanden sein, wenn sie vorher vollkommen trocken gewesen sind. Aehnlich wie sich z. B. Chlorcalcium, wenn man es in den Dampf gibt, erheblich erwärmt — bis zu 174° binnen 11 Minuten — erwärmen sich trockene Wollstoffe oder Roßhaare u. dergl. vermöge ihrer hygroskopischen Eigenschaft im strömenden und gespannten Dampf weit über 100°. In einem dem Dampfe ausgesetzten trockenen Wollknäuel ließen sich von Minute zu Minute steigende Hitzegrade nachweisen, nach 16 Minuten waren 147,5° erreicht! Vorwärmung mit trockener Luft ist geeignet, solche Desinfektionshindernisse zu begünstigen, wie Rubners weiterer Versuch dartut, bei dem die Temperatur in trockener Wolle binnen 20 Minuten 117°, in einer auf 88° vorgewärmten Wolle aber innerhalb 10 Minuten bereits 134° erreicht hatte. In vorher getrockneter Wolle waren nach halbstündiger Wirkung strömenden Dampfes 124 bis 126° erreicht und eingebrachte Milzbrandsporen nicht abgetötet worden, während sie in einer mit hygroskopischem Wasser gesättigten Wolle gestorben waren, trotzdem daß nur 99,8° erreicht worden waren (HR. 98. 721 und 99. 321). Da zur Abtötung bereits eine kleine Menge hygroskopischen Wassers genügt, und die in der Praxis zu desinfizierenden Stoffe meist nicht vollkommen trocken sind, werden derartige Störungen der Desinfektionswirkung nicht häufig zu erwarten sein. Immerhin wird man mit der trockenen Vorwärmung vorsichtig sein müssen.

Durch die „hygroskopische Kondensation" werden die Stoffe mit hygroskopischem Wasser allmählich gesättigt und das kann schon bei niedrigeren Dampftemperaturen stattfinden. Sie geht der „thermischen Kondensation" voraus. Wenn die bei der Sättigung mit hygroskopischem Wasser entstandene Uebererwärmung wieder verschwunden ist, ist dem nachströmendem heißen Dampf Gelegenheit gegeben, sich durch Abkühlung an den Stoffen zu kondensieren. Zunächst ist die Triebkraft, die den Dampf an die Objekte heran und in die zugänglichen Poren hineinführt, der zwischen der vorhandenen Luft und dem Dampf bestehende Gewichtsunterschied, die sogenannte „Penetrationskraft". Je permeabler ein Stoff ist, je offener und weiter seine Poren sind, desto leichter wird der Dampf eintreten können. Je größer der Temperaturunterschied zwischen Objekt und Dampf, desto reichlichere Kondensation wird erfolgen. Bei der Kondensation entsteht ein Vakuum, nach dem neuer Dampf energisch hinströmt. Je rascher und sicherer die vorhandene Luft aus den Poren durch den Dampf verdrängt wird, umso eher und besser wird das gewünschte Ergebnis der Desinfektion eintreten.

Die drei für den Erfolg der Dampfdesinfektion maßgebenden Dinge, hygroskopische Kondensation, Penetrationskraft und thermische Kondensation, werden nur dann in zweckentsprechender Weise sich entfalten, wenn die Gegenstände im Dampfapparat geeignet angeordnet worden sind. „Die so oft versuchte Warenballendesinfektion ist ein Unternehmen, welches man im Grunde genommen am besten von den Desinfektionsaufgaben überhaupt streichen sollte. Die Natur großer Objekte und noch dazu zugeschlossener Ballen, deren nähere Beschaffenheit man nicht kennt, sollte von vorneherein es verbieten, eine für diese Zwecke anwendbare Versuchstechnik ausarbeiten zu wollen. Was man nicht sehen und richtig anordnen kann, eignet sich niemals für die Desinfektion" (M. Rubner, AfH. 55. 232 und 56. 209).

Für die Desinfektion in der Praxis und im großen werden jetzt Apparate mit strömendem Dampf gefordert, dem ein geringer Ueberdruck von 0,15 Atmosphären gegeben ist, damit die notwendige Siedetemperatur an allen Stellen des Apparates und seines Inhalts sicher erreicht wird, überall möglichst gesättigter Dampf vorhanden ist und die Eindringungsdauer in dickere Schichten minder guter Wärmeleiter oder feinporigeren Materials abgekürzt wird; der Erfolg ist noch sicherer, wenn der Dampf oben ein- und unten austritt, damit er die spezifisch schwerere Luft, anstatt sich mit ihr zu sehr zu mengen, allmählich vor sich herschiebend rascher verdrängen kann.

Digitized by Google

Apparate mit 0,15 Atmosphären Ueberdruck sind durch Reichsgesetz vom 22. Oktober 1902 zur Verhütung von Ansteckungen durch Tierhaare für Roßhaarspinnereien, Haar- und Borstenzurichtereien, sowie Bürsten- und Pinselmachereien vorgeschrieben.

Im Reichsgesetz vom 30. Juni 1900, sowie in den amtlichen Anweisungen zur Bekämpfung der Lepra, der asiatischen Cholera, des Fleckfiebers, der Pest, der Pocken, des Typhus heißt es unter „Dampfapparate“:

„Als geeignet können nur solche Apparate und Einrichtungen angesehen werden, welche von Sachverständigen geprüft sind.

Auch Notbehelfseinrichtungen können unter Umständen ausreichen.

Die Prüfungen derartiger Apparate und Einrichtungen haben sich zu erstrecken namentlich auf die Anordnung der Dampfzuleitung und -ableitung, auf die Handhabungsweise und die für eine gründliche Desinfektion erforderliche Dauer der Dampfeinwirkung.

Die Bedienung der Apparate u. s. w. ist, wenn irgend angängig, wohl unterrichteten Desinfektoren zu übertragen.“

Es gilt die Regel, daß man den Dampf von einem Zeitpunkt an, wo im Innern der im Apparat befindlichen Gegenstände die Siedetemperatur herrscht, noch $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunden einwirken läßt. Wann dieser Zeitpunkt erreicht ist, kann durch ein Klingelthermometer angezeigt werden, ob $^1/_2$ Stunde später auch wirklich die Abtötung der Keime angenommen werden kann, muß eben durch einen Sachverständigen festgestellt werden.

Bei der **Prüfung der Apparate** wird sich der Sachverständige deshalb insbesondere darüber Gewißheit zu verschaffen haben, ob und wann die geforderte Temperatur im Innern der Gegenstände erreicht wird und ob Sporen von nicht zu geringer Widerstandsfähigkeit tatsächlich abgetötet werden.

Als Kontrollapparate für die Erreichung der Temperatur dienen entweder organische Präparate oder Metalllegierungen von bestimmtem Schmelzpunkt oder Kontaktthermometer.

Phenanthren, das bei 99° schmilzt, ist von Sticher (C. f. Chir. 99. 1291) vorgeschlagen worden; es wird mit zwei Glashüllen umgeben, deren direkte Berührung durch eine dazwischen liegende Luftschicht verhindert ist; diese Umhüllung hat den Zweck, daß dem Eindringen von Wärme ein Hindernis geboten wird, zu dessen Ueberwindung sie wenigstens 10 Minuten Zeit braucht. Da das Phenanthren, einmal verflüssigt, beim Sinken der Temperatur sehr rasch wieder fest wird, werden die Pole durch verschiedenfarbige Oesen gekennzeichnet, und die Apparate senkrecht aufgestellt, so daß sich das feste Mittel oben befindet. In ähnlicher Weise wird Brenzkatechin, das bei 104° schmilzt, verwendet.

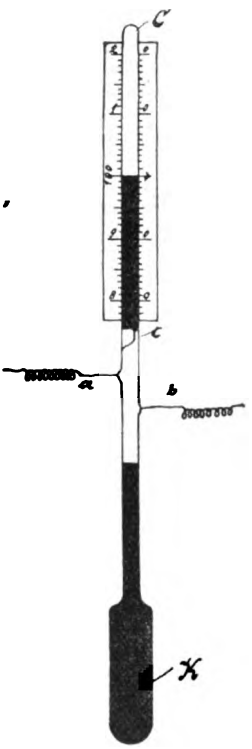
Kontakt- und Klingelthermometer sind so eingerichtet, daß bei Erreichung einer gewissen Temperatur ein elektrischer Kontakt hergestellt wird, worauf die außerhalb des Desinfektors angebrachte Glocke ertönt. Das Thermometer wird ins Innere der Warenballen verpackt und mit dem elektrischen Läutwerk durch dampffeste Leitungsschnüre verbunden. Der Warenballen mit dem Thermometer soll an der tiefsten, d. h. von der Dampfeinströmung am weitesten entfernten Stelle zu liegen kommen. Es gibt zweierlei Arten. Bei der einen, von H. Merke angegebenen, ist zwischen den beiden Enden einer federnden Klemme oder einer Metallkugel ein Stück Blei-Zinn-Wismut-

Digitized by Google

Legierung eingelegt. Wenn dieses Rosesche Metall bei 100° schmilzt, tritt durch Berührung zweier Metallflächen Stromschluß ein, wodurch das Läutwerk in Tätigkeit gesetzt wird.

Jetzt werden Kontaktthermometer bevorzugt, die nach dem Maximumsystem konstruiert sind (s. Proskauer und Elsner ZfH. 43. 500). Die Fig. 197 zeigt ein solches; im Maximumthermometer KC befinden sich zwei übereinander gelegene Platindrähte, die durch die Leitungsschnüre a und b mit der Klingelbatterie verbunden sind. Der kleine zwischen ihnen befindliche leere Raum wird von dem Quecksilberfaden ausgefüllt, wenn die geforderte Temperatur erreicht ist. Ueber die Wirkung des Glaswiderstandes c und über die Einstellung eines solchen Thermometers s. S. 139.

Fig. 197.



Wenn es nicht darauf ankommt, den Zeitpunkt zu erfahren, wann der geforderte Hitzegrad erreicht worden ist, sondern nur, ob dies überhaupt geschehen ist, dann kann man auch einfache Maximumthermometer, die für Temperaturen von und über 100° eingestellt sind, benutzen.

Zur Kontrolle der desinfektorischen Leistungsfähigkeit sind nach dem Vorgange von R. Koch und seinen Schülern (KGA. Mittlg. 1. 301 und 322) die mit Milzbrandsporen getränkten Seidenfäden gebräuchlich; sie werden, in Beutelchen verpackt, zwischen die Objekte ins Innere von mehrfach zusammengerollten und geschnürten Decken oder Matratzen, insbesondere auch in die Nähe des Kontaktthermometers gelegt und sonst an verschiedenen Stellen im Apparat verteilt. Nach beendigter Desinfektion werden sie in Nährbouillon übertragen, die im Brütschrank gehalten und 10 Tage lang beobachtet wird, ob Wachstum erfolgt oder nicht.

Leider hält es schwer, Milzbrandsporen von genügender Widerstandsfähigkeit jederzeit zur Hand zu haben; solche, die 10 und 12 Minuten im strömenden Dampf aushalten, sind selten. In jedem Falle muß ihre Widerstandsfähigkeit vorher im Laboratoriumsversuch (s. S. 191) festgestellt sein. Päckchen mit Sporenmaterial können die Kreisärzte aus staatlichen bakteriologischen Instituten beziehen (k. pr. Erlaß vom 25. Sept. 02; KGA. Vöff. 02. 1089).

R. Weil schlug als Material von stets gleicher Resistenz vor, Sporen des von Haus aus sehr widerstandsfähigen roten Kartoffelbazillus (Bac. mesentericus ruber) zu benutzen, die man durch Erhitzung so abschwächen könne, daß Stämme herauskommen, die nur eine bestimmte Anzahl, 3 oder 8 Minuten strömenden Dampf aushalten (C. 30. 500). Ihre Gewinnung ist nicht einfach, und Weil mußte bemerken, daß die Hitzebeständigkeit derartig abgeschwächter Sporen bereits in der ersten Generation von 9 auf 4 Minuten sank.

Digitized by Google

Wenn es gelingt, die Milzbrandsporen zu umgehen, hat man den nicht zu unterschätzenden Vorteil, daß die Gefahr, die mit der Hinausgabe infektiöser Keime aus dem Institut verbunden ist, wegfällt. Des unsicheren und umständlichen Verfahrens von Weil kann man entraten, da es genug nicht pathogene Bazillenarten gibt, deren Sporen die gewünschte Widerstandsfähigkeit von Haus aus besitzen. So hat A. Meyer nach Versuchen von D. Ellis folgende Zusammenstellung gegeben, die sich recht gut für die Praxis dienstbar machen läßt; die Tötungszeiten betrugen für 100° im siedenden Wasserbade (s. S. 192) bei:

Bac. ellenbachensis	1 bis 2 Min.	Bac. carotarum	4,5 bis 5,5 Min.
„ ruminatus	1,75 „ 2 „	„ pumilus	6 „ 7 „
„ fusiformis (aerob)	3 „ 4 „	„ graveolens	7 „ 10 „
„ simplex	3 „ 4 „	„ mycoides	10 „
„ tumescens	4 „ 5 „	„ subtilis	150 bis 180 „
„ cohaerens	4,5 „ 5 „		

Die genannten Arten sind außer Bac. carotarum, mycoides und subtilis von O. Gottheil an unterirdischen Pflanzenteilen gefunden und sämtlich C. II. 7. 483 ff. beschrieben worden.

Ich habe aus dieser Reihe den Bac. pumilus gewählt und eine 17 Tage auf gewöhnlichem, sowie eine 12 Tage auf Zuckeragar bei 35° gezüchtete, dann an Seidenfäden angetrocknete Kultur geprüft; die Sporen wurden genau nach 8 Minuten 30 Sekunden und vor 9 Minuten langem Verweilen im strömenden Dampf (Hamburger Sporenprüfungsapparat) getötet. Man hat also damit ein recht brauchbares Testobjekt.

Weitere Versuche werden zu entscheiden haben, ob sich die Widerstandsfähigkeit in länger fortgezüchteten Kulturen oder bei an Seidenfäden angetrockneten Sporen beliebig lange Zeit annähernd gleichmäßig hält. Nach meinen Versuchen über trocken aufbewahrte (sporenfreie) Bakterien ist zu schließen, daß dies der Fall sein wird, wenn man sie in luftdicht abgeschlossenen Röhrchen über Chlorcalcium hält. Von den mir gütigst von A. Meyer überlassenen Kulturen habe ich außerdem eine 10 Wochen alte Agarkultur von Bac. pumilus durch Einstellung der Aufschwemmung in siedendes Wasser geprüft und dieselben Zahlen wie A. Meyer erhalten.

Die Prüfung der Widerstandsfähigkeit von Bakterien oder deren Sporen gegen strömenden Dampf ist S. 191 f. beschrieben. Bei Untersuchungen über die Abtötung von Bakterien bei niedrigeren Wärmegraden bedient man sich meistens der Wasserbäder; je größer das Gefäß, desto leichter läßt sich die Wärme des Wassers durch zeitweise Regelung der Flamme gleichmäßig erhalten. Die Versuche werden ganz ähnlich ausgeführt wie die im siedenden Wasserbade. Jedenfalls benutze man immer kleine Mengen Aufschwemmung in kleinen Reagenzgläschen, damit die Wärme rasch eindringen kann.

Sollen bestimmte Wärmegrade unter 100° längere Zeit hindurch eingehalten werden, dann muß man eine Art Thermostaten nehmen, dessen doppelte Wand mit einer Flüssigkeit gefüllt wird, die ihren Siedepunkt bei der gewünschten Temperatur hat. Einen solchen Apparat hat A. Meyer (Praktikum S. 129) angegeben; der Arbeitsraum ist 20 cm hoch und 10 cm weit und wird mit Wasser gefüllt, das bald die Wärme der in der Doppelwand stehenden Flüssigkeit annimmt.

Digitized by Google

Durch Aufsetzung eines Rückflußkühlers auf den sonst allseitig geschlossenen Raum wird die Verdampfung der Flüssigkeit vermieden. Ein ähnlicher Apparat wurde von Balfour Stewart (C. 27. 366) beschrieben; seine Wandung wird mit Benzol für die Innehaltung von 80° gefüllt. A. Meyer gibt folgende Flüssigkeiten für konstante Temperaturen an: Für

60° Chloroform	107° Toluol
70° Methyläthylalkohol 3 : 7	136° Xylol
75° Aethylalkohol	150° Anisöl
80° Aethylpropylalkohol 7 : 4	161° Cumol
90° Aethylpropylalkohol 1 : 8	180° Anilin
97 bis 100° Wasser	200° Naphthalin
	300° Diphenylamin.

Ist es schon bei Sporen nicht ganz gleichgültig, ob die Aufschwemmungen in Wasser, in Kochsalzlösung oder in Bouillon gemacht werden, so muß man bei den vegetativen Formen noch mehr darauf achtgeben, daß man nicht ein Medium wählt, das an und für sich ungünstige Bedingungen durch Aenderung des osmotischen Druckes oder sonstwie schafft. Insbesondere ist dies zu beachten, wenn die eingesäte Keimmenge, wie dies bei Zählbestimmungen der überlebenden der Fall zu sein pflegt, an und für sich gering ist, bei konzentrierten Keimaufschwemmungen macht es weniger aus, falls eine Anzahl Keime durch die Uebertragung in ein anderes Medium zu Grunde gehen sollte. Destilliertes Wasser soll man überhaupt nicht zu Bakterienaufschwemmungen nehmen, sondern wenigstens Leitungswasser oder 0,85proz. Kochsalzlösung. M. Ficker hat in einem Erwärmungsversuche nachgewiesen, daß Choleravibrionen, die in geringer Menge in Kochsalzlösung aufgeschwemmt worden waren, bei 45° zwischen 8 und 15 Minuten, solche, die in Bouillon suspendiert waren, erst zwischen 1½ und 2 Stunden zu Grunde gingen (ZfH. 29. 1). Wahrscheinlich rührt dies teils von der Zusammensetzung der Bouillon, teils von einem Zusammenballen, einer Verklumpung der Choleravibrionen her, die man oft sehen kann, wenn man Bakterien in Bouillon überträgt, während sie in Kochsalzlösung mehr einzeln bleiben und so für die Wärme leichter angreifbar sind.

Kälte.

Bei 0° vermögen, wie S. 215 erwähnt, nur wenige Bakterien auszukeimen, sie sterben aber nicht ab; ja selbst bei sehr erheblichen Kältegraden, z. B. — 190°, wie man sie durch flüssige Luft zu erzeugen vermag, bleiben in jeder Kultur noch einige Individuen am Leben (E. F. Smith und D. Swingle C. r. 37. 356). Eher gelingt eine Schädigung durch wiederholtes Gefrieren und Wiederauftauen; immerhin fand z. B. W. Brehme nicht alle Typhus- und Cholerakeime abgestorben, die einem 40maligen Wechsel zwischen — 15° und + 15° unterworfen worden waren (AfH. 40. 320).

Für Gefrierversuche im Laboratorium kann man, wenn flüssige Luft nicht zu Gebote steht und nicht zu niedrige Grade beansprucht werden, eine der in Haushaltungen gebräuchlichen Eismaschinen benutzen oder eine der bekannten Kältemischungen, etwa aus 1 Teil Kochsalz und 3 Teilen Schnee oder aus gleichen Teilen Salmiak, Salpeter und

Digitized by Google

Wasser, was eine Temperaturerniedrigung von — 21° bezw. — 24° gibt oder dergl. Nach Rüdorff geben 150 Teile Schwefelcyankalium in pulverisierter Form mit 100 Teilen Wasser gemischt bei der in höchstens 1 Minute erfolgenden Auflösung eine Temperaturerniedrigung von — 34,5°; dieses Salz bietet zugleich den Vorteil, daß es durch Eindampfung der Lösung ohne erheblichen Verlust wieder gewonnen und zu neuen Versuchen verwendet werden kann.

Licht.

Daß direktes Sonnenlicht sehr widerstandsfähige Keime binnen verhältnismäßig kurzer Zeit zu töten vermag, ist an Fäulnisgemischen von Downes und Blunt im Jahre 1877 und an Milzbrandsporen zuerst von Arloing 1885 erwiesen worden, der sie nach zweistündiger Besonnung abgestorben fand.

Eine sehr anschauliche, leicht nachzuahmende Anordnung rührt von H. Buchner (AfH. 17. 179) her: Nähragar wird durch Kochen verflüssigt, bei 40° gekühlt und mit einer bestimmten Bakterienart (Koli-, Typhusbazillen, Pyocyaneus u. s. w.) geimpft, die Aussaat gleichmäßig verteilt, und die Agarlösung in ein Doppelschälchen gegossen. Nach eingetretener Erstarrung befestigt man ein Kreuz oder Buchstaben aus schwarzem Papier an der Unterfläche, die, zu diesem Zweck nach oben gerichtet, 1 bis 1½ Stunden dem direkten Sonnenlicht oder für 5 Stunden dem zerstreuten Tageslicht ausgesetzt wird. Danach überläßt man die Keime an einem dunkeln Orte ihrer Entwicklung. Nach 24 Stunden erscheinen die aufgeklebten Buchstaben oder dergl. vollkommen scharf, gebildet von den ausgekeimten Kolonien, während der ganze übrige Teil der Platte steril geblieben ist. Um ganz scharfe Bilder und Konturen zu erhalten, muß man die Platte stark besäen, damit die entstehenden Ansiedlungen dicht gedrängt und klein bleiben. Schon 10 Minuten dem Licht ausgesetzt gewesene Schalen lassen eine Entwicklungshemmung der Bakterien erkennen. Auch Agarplatten, die am Grunde eines 0,5 m tiefen Wasserbehälters dem Sonnenlicht ausgesetzt worden waren, zeigten sich in gleicher Weise beeinflußt.

Seitdem ist die Desinfektionswirkung des Sonnenlichts mehrfach bestätigt und festgestellt worden, daß sie hauptsächlich von den blauen, violetten und ultravioletten Strahlen hervorgerufen ist. Die dabei vorhandene Wärme trägt dazu ihren Teil bei; daß auch die unter dem Einflusse der Belichtung bei vorhandenem Luftsauerstoff eintretenden Veränderungen der Nährböden an der Abtötung beteiligt seien, indem, wie man vermutete, Wasserstoffsuperoxyd und andere Oxydationsprodukte gebildet würden, ist von H. Thiele und K. Wolf widerlegt worden (AfH. 57. 29; weitere Literatur s. bei E. Gotschlich, Hdb. d. path. Mikr. 4. 196).

Fluoreszierende (photodynamische) Stoffe wirken im Lichte bakterientötend, die einen eher, die andern weniger bald. Nach A. Marmorek wird der Tuberkelbazillus durch Eosin bei 24stündiger Exposition getötet, H. v. Tappeiner und A. Jodlbauer fanden eine 0,2proz. Lösung von Eosin gegenüber Prodigiosus erst in 5 bis 7 Tagen wirksam, Erythrosin tötete schon in 2 bis 4 Tagen, dagegen Tetrachlortetrajodfluorescein (Rose bengale), Phenosafranin und Methylenblau

Digitized by Google

bereits am 1. bis 2. Tage; noch stärker war die Wirkung auf Paramäcien; diese niederen Tiere gingen in einer nur schwach fluoreszierenden sterilen Kultur von Bac. pyocyaneus nach 1 Stunde im zerstreuten Tageslicht zu Grunde, während sie im Dunkeln noch größtenteils am Leben blieben. Dieselben Forscher wiesen auch eine entgiftende Wirkung auf Diphtherie- und Tetanustoxin nach (MmW. 04. 737 und 1096). Aehnliches fand L. Lichtwitz bei Eosin gegenüber hämolytischen Sera und konnte nachweisen, daß die Wirkung auf Vernichtung des Komplements (nicht des Zwischenkörpers) beruht (MmW. 04. 1589).

Von künstlichen Lichtquellen kommt vor allem das elektrische Bogenlicht in Betracht. S. Bang fand Tuberkelbazillen und pyogene Staphylokokken getötet, wenn er sie 6 Minuten einer Bogenlampe von 30 Ampère in 30 cm Entfernung aussetzte (r. MmW. 04. 722). Noch intensiver wirkte das von ihm zu phototherapeutischen Zwecken verwendete Eisenlicht, das nicht so sehr wärmt, wie einfaches Bogenlicht. A. Chatin und S. Nicolau ließen diese Lichtquellen auf Agarplatten ohne Deckel, da dieser die Wirkung zu sehr beeinträchtigte, in 12 cm Entfernung bei 18 Ampère und 110 Volt strahlen und stellten die Abtötung fest (r. C. 33. 750 und HR. 04. 41) im Lichte der:

	Eisenelektrode	gewöhnlichen Kohle
bei Staph. aur. . .	in 12 Sek.	4 Min.
„ Bac. pyocyan. .	„ 12 „	3 „
„ „ coli . . .	„ 25 „	5 „
„ „ diphther. .	„ 15 „	4 „
„ „ tubercul. .	„ 25 „	3½ „
„ Bac. anthracis mit Sporen .	„ 1 Min.	4½ „

Den Röntgenstrahlen scheint eine hervorragende bakterientötende Kraft nicht zuzukommen, immerhin hat sie sich nicht verkennen lassen; H. Rieder hat, namentlich bei Verwendung neuerer leistungsfähigerer Röntgenröhren auf der in 10 bis 12 cm Entfernung aufgestellten oberflächlich besäten Agarplatte Abtötung von Cholera-, Prodigiosus- und Colikeimen beobachtet, wozu 2 bis 3 Stunden nötig waren; vollentwickelte Kulturen ließen sich nicht abtöten (MmW. 02. 402).

Mit Radiumstrahlen hat man mehr Erfolg gehabt, doch blieb auch dieser hinter dem mit Eisenlicht erheblich zurück. Während letzteres Typhusbazillen in 1 bis 2 Sekunden vernichtete, gelang es dem Radium in 2 mm Entfernung erst nach 3, bei 3 bis 4 mm Entfernung erst binnen 5 bis 6 Stunden. R. Pfeiffer und E. Friedberger hatten bei 1 cm Entfernung nach 48stündiger Bestrahlung Erfolg; Choleravibrionen wurden nach 12- bis 16stündiger Bestrahlung in der Weiterentwicklung gehemmt. Bei einer Annäherung auf 3 bis 4 mm waren Milzbrandsporen bereits in 30 Stunden abgetötet (BkW. 03. 640 und 700). Körperzellen, die unter der Einwirkung von Radiumstrahlen zu Grunde gehen, vermögen bakterizide Eigenschaften zu entwickeln (R. Werner, MmW. 05. 1625).

Chemikalien.

Chemische Mittel sah man einst, namentlich in der Zeit, als man die bakterienfeindliche Wirkung des Blutserums und der Körpersäfte

Digitized by Google

noch nicht kannte, als berufen an, die in Wunden oder innere Organe hineingelangten Infektionsstoffe an ihrer Weiterentwicklung zu hindern und abzutöten. Ehe E. v. Behring die antitoxischen Eigenschaften des Blutserums vorbehandelter Tiere gegen das Diphtherie- und Tetanusgift entdeckt hatte, war er nach vielfältigen Versuchen mit keimwidrigen Mitteln, die er, um den Verhältnissen im Körper möglichst gerecht zu werden, im Blutserum auf verschiedene Bakterienarten hatte wirken lassen, zu dem Schlusse gekommen, daß die untersuchten Mittel meist schon im sechsten Teile der Menge, die zur Abtötung von Keimen im Blutserum außerhalb des Körpers erforderlich waren, auf den Organismus giftig wirkten und den Tod herbeizuführen vermochten (ZfH. 6. 477).

Man hat auch seitdem kein Mittel mehr gefunden, das die Bakterien innerhalb des Körpers abzutöten im stande gewesen wäre; das schon seit zwei Jahrhunderten gegen Malariaparasiten angewendete Chinin und das Quecksilber gegen Syphilis stehen heute noch vereinzelt da.

So beschränkt sich die Prüfung auf die Verhältnisse außerhalb des Organismus. Es kommt nun darauf an, ob man herausbringen will, entweder wie ein Mittel und in welcher Stärke es gegen Bakterien überhaupt wirkt, oder in welcher Menge und Form es zur Unschädlichmachung bakterienhaltiger Ausscheidungen herangezogen werden kann. Wenn man in letzterem Sinne z. B. wissen will, wie Sputum Tuberkulöser unschädlich zu machen ist, wird man nicht mit den Kenntnissen über die Wirksamkeit der Desinfektionsmittel gegen Tuberkelbazillen in Reinkulturen ausreichen, sondern es muß eben Sputum selbst zu den Versuchen genommen und geprüft werden, ob es nach der oder jener Einwirkung noch lebende Tuberkelbazillen enthält.

Hier soll eingehender die gebräuchlichste Art und Weise der Prüfung besprochen werden, die sich mit der Feststellung der desinfizierenden Eigenschaft bestimmter chemischer Mittel gegenüber Bakterien in Reinkulturen außerhalb der Körpersäfte befaßt; selbstverständlich ist das Verfahren dasselbe oder ganz ähnlich, wenn man herausbringen will, wie widerstandsfähig bestimmte Bakterienarten oder deren Sporen gegenüber verschiedenen Desinfektionsmitteln sind.

Hier muß man sich des Unterschieds zwischen Entwicklungshemmung und Desinfektion (s. S. 277) sehr wohl bewußt sein. Es kann z. B. der tausendste Teil der Menge, die Bakterien zu töten vermag, dem Nährboden zugesetzt, im stande sein, sie am Auskeimen zu verhindern. Unter günstige Bedingungen gesetzte Keime werden eine Schädigung leichter überwinden; so fand E. v. Behring das Sublimat in Nährgelatine bei Zimmerwärme schon in der Menge von 1:400000 entwicklungshemmend gegenüber Milzbrandbazillen, während im Brütschrank bei 36° die Wachstumsbehinderung erst bei einem Gehalte von 1:100000 einsetzte (ZfH. 9. 398).

Bei der Desinfektion mit Chemikalien sind ähnliche Möglichkeiten zu beachten. Einerseits sind Kleinwesen, die auf der Höhe ihrer Lebenskraft stehen, widerstandsfähiger als bereits geschädigte, anderseits wirken chemische Mittel unter gewissen physikalischen Bedingungen besser; als solche kommen hauptsächlich die elektrolytische Dissoziationsfähigkeit der Verbindung und die Temperatur in Betracht.

Digitized by Google

Die elektrolytische Dissoziationsfähigkeit ist, wie B. Krönig und Th. Paul nachgewiesen haben, für die Desinfektionswirkung der Salze maßgebend und somit auch für die der Säuren und Basen, denn Säuren sind Salze des Wasserstoffs, Basen Salze des Hydroxyls; je größer sie ist, desto stärker die Wirkung (s. auch L. Heim, Lehrbuch d. Hygiene, S. 261). Befinden sich die Elektrolyte nicht in wäßriger Lösung, sondern z. B. in absolutem Alkohol oder Oel, so werden sie nicht wirken können, weil sie nicht dissoziiert sind. Vom Oel sind Bakterien überhaupt nicht benetzbar.

Starke Säuren, die in verdünnten wäßrigen Lösungen zu 80 bis 90 % dissoziiert sind, sind z. B. Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure; die letztere ist wirksamer als die anderen, wahrscheinlich infolge einer spezifischen giftigen Wirkung auf die Bakterien (Krönig und Paul). Normalsalpetersäure tötet Milzbrandsporen in 2 Minuten, -salzsäure nicht sicher in 8 Stunden, -schwefelsäure noch weniger sicher in 8 Stunden.

Mäßig starke Säuren sind Phosphorsäure, schweflige Säure, Essigsäure, deren Dissoziation nicht über 10 % geht.

Schwache Säuren mit einer Dissoziation unterhalb 1 % sind Kohlensäure, Kieselsäure, Borsäure, Schwefelwasserstoff; von ihnen kann man eine nennenswerte Desinfektionswirkung überhaupt nicht erwarten.

Die Temperatur ist von ganz wesentlichem Einfluß; Hitze und Chemikalien unterstützen sich gegenseitig in der Wirkung. Die letzteren wirken bei höherer Temperatur energischer. Anderseits kann auch die Wirkung des warmen und heißen Wassers und die des Wasserdampfes durch Zugabe von chemischen Desinfektionsmitteln gesteigert werden. Die Verwendung von gesättigten Wasserdämpfen unter dem Siedepunkte zusammen mit flüchtigen Desinfektionsmitteln ist von M. Rubner versucht und als wichtige und aussichtsvolle Desinfektionsmethode (AfH. 56. 241) hervorgehoben worden. E. v. Esmarch (HR. 02. 961) und K. Kokubo (C. 32. 234) fanden Sporen von Kartoffelbazillen, die im strömenden Dampf sonst 2 Stunden aushielten, in 2 Minuten vernichtet, wenn dem zur Dampferzeugung bestimmten Wasser 1 % Formalin zugesetzt worden war.

Die Ausführung von Desinfektionsversuchen mit Chemikalien ist ungleich mühevoller und verwickelter als die mit Hitze. Maßgebend für sie sind die Arbeiten von B. Krönig und Paul; ich folge hier auszüglich der von Paul*) gegebenen Anleitung und führe die von den beiden Forschern niedergelegten acht Forderungen auf:

1. Die für eine vergleichende Versuchsreihe benutzten Bakterien müssen gleiche Widerstandsfähigkeit haben.

2. Die Anzahl der zu den einzelnen Versuchen verwendeten Bakterien muß annähernd die gleiche sein.

3. Die Bakterien müssen in die desinfizierenden Lösungen gebracht werden, ohne daß etwas von dem Nährsubstrat, auf dem sie gezüchtet wurden, mit übertragen wird.

*) Th. Paul, Entwurf zur einheitlichen Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel. Mit besonderer Berücksichtigung der neueren physikalisch-chemischen Theorien der Lösungen. Berlin bei J. Springer 1901.

Digitized by Google

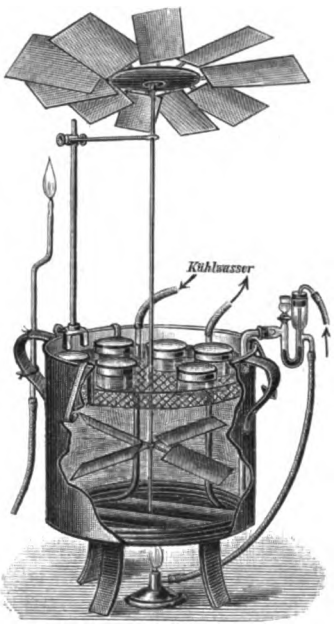
4. Die Desinfektionslösungen müssen während der Einwirkung stets die gleiche Temperatur haben.

5. Nach der Einwirkung der desinfizierenden Mittel müssen die Bakterien wieder möglichst vollständig von diesen befreit werden.

6. Die Bakterien müssen, nachdem sie der Einwirkung der desinfizierenden Lösungen ausgesetzt wurden, auf gleichen Mengen desselben günstigen Nährbodens bei gleicher Temperatur, wenn möglich beim Optimum, zum Wachstum gebracht werden.

7. Die Zahl der noch entwicklungsfähig gebliebenen Bakterien muß nach Ablauf derselben Zeit festgestellt werden. Aus diesem Grunde können nur feste Nährböden benutzt werden.

Fig. 198.



8. Handelt es sich um wissenschaftliche Untersuchungen, dürfen die Konzentrationen der Lösungen nicht nach Gewichtsprozenten verglichen werden, sondern es müssen äquimolekulare Mengen der betreffenden Stoffe zur Anwendung kommen.

Zu den Versuchen werden hauptsächlich Milzbrandsporen und als Vertreter widerstandsfähiger, nicht sporenbildender Arten Staphylokokken (Staph. pyog. aur.) benutzt. Die letzteren halten die Austrocknung über ein Jahr aus, wenn man sie im Exsikkator aufbewahrt, es ist aber immerhin zu empfehlen, frisch aus Eiter gezüchtete zu nehmen. Zur Erfüllung der ersten der genannten Forderungen muß eine Prüfung mit einem bekannten Desinfektionsmittel ausgeführt werden, in jedem Falle mit Sublimat, außerdem noch mit einem bekannten Mittel der chemischen Gruppe, zu der das zu untersuchende Mittel gehört oder der es nahe steht.

Die Art der Antrocknung an Granaten ist S. 280 f. beschrieben und dabei ist bereits die Forderung 2 und 3 berücksichtigt worden.

Um der Forderung 4 zu genügen, ist es zweckmäßig, sämtliche Versuche bei 18° auszuführen und diese Temperatur innerhalb 1 bis 2 Zehntelgraden einzuhalten, damit die Resultate direkt miteinander verglichen werden können.

Hierzu werden die Lösungen in starkwandigen Glasschalen von etwa 3,5 cm Höhe und 7 cm Dchm. mit aufgeschliffenem Deckel in einen Thermostaten nach W. Ostwald gebracht, dessen Einrichtung aus Fig. 198 ersichtlich ist. In einem runden, mit Wasser gefüllten emaillierten Blechgefäß von etwa 30 cm Höhe und 35 cm Dchm. befindet sich etwa 2 cm unter der Oberfläche des Wassers ein Siebboden zur Aufnahme der die Desinfektionslösungen enthaltenden Schalen. Die Erwärmung geschieht mit einer kleinen Gasflamme, deren Gaszufuhr durch einen Ostwaldschen Thermoregulator geregelt wird.

Digitized by Google

Damit die Temperatur überall gleich ist, ist im Wasser eine Rührvorrichtung angebracht, die durch die Wärme einer kleinen Gasflamme ähnlich einer Windmühle getrieben wird. Für den Sommer, wo die Temperatur über 18° liegt, befindet sich einige Zentimeter über dem Boden ein Schlangenrohr aus Blei, das mit der Wasserleitung in Verbindung gesetzt wird.

Während die Desinfektionslösungen die Versuchstemperatur annehmen, was etwa 20 bis 30 Minuten beansprucht, zählt man mittels einer mit Platinarmen versehenen Pinzette (Fig. 199) die für jede Lösung nötige Anzahl infizierter Granaten in kleine, mit übergreifenden Deckeln versehene Glasschälchen von etwa 2 bis 3 cm Dchm. ab. Zur festgesetzten Zeit werden die Granaten aus diesen Schälchen in die Lösungen geschüttet, und hierauf bringt man je 30 Stück von ihnen innerhalb der Lösung mittels der Pinzette auf kleine Platinsiebchen (Fig. 200) von etwa 2 cm Länge und 2 cm Breite, die aus dünnem durchlochtem Platinblech hergestellt und mit einem Henkel aus Platindraht versehen sind. (Die Siebchen dürfen nicht dazu benutzt werden, um die Granaten in die Lösungen hineinzubringen, weil sonst sehr leicht Lufträume zwischen ihnen erhalten bleiben, die die unbedingt erforderliche gleichmäßige Benetzung mit den Desinfektionslösungen verhindern.) Nach Ablauf der bestimmten Zeit werden die Siebchen mit den Granaten aus den Lösungen herausgehoben und in einem oder zwei Schälchen mit etwa 15 ccm sterilen Wassers oder einer anderen geeigneten Flüssigkeit abgespült.

Fig. 199.

Fig. 200.

Zur Unschädlichmachung der Desinfektionsmittel (Forderung 5) werden die Granaten in Schalen geschüttet, die das dazu nötige Reagens enthalten. Da in der Regel erst das Einbringen in dieses Reagens der Einwirkung des Desinfektionsmittels auf die Bakterien eine Grenze setzt, ist die Desinfektionsdauer bis dahin zu rechnen. Auf diesen Akt ist große Sorgfalt zu verwenden, weil schon sehr kleine Mengen des auf den Nährboden mitübertragenen Desinfektionsmittels im stande sind, die durch den Desinfektionsvorgang geschwächten Bakterien am Auskeimen zu verhindern. Zur Unschädlichmachung werden benutzt für:

Salze der Schwermetalle: Schwefelammonium (indifferent auch gegen die vegetativen Formen). Es wird aus dem offizinellen Liquor Ammonii caustici (= 10 % Ammoniak) durch Einleitung von Schwefelwasserstoff bereitet und bei Sporenmaterial in 3- bis 5proz., bei vegetativen Formen in 0,3proz. Lösung angewendet.

Basen: verdünnte Essigsäure.

Säuren: verdünntes Ammoniak.

Chlor und Brom: verdünntes Ammoniak.

Jod: wäßrige Natriumthiosulfatlösung.

Formaldehyd: Ammoniak; es wirkt jedoch nur langsam.

Für Karbolsäure gibt es kein geeignetes Reagens, das schwer lösliche oder andere unschädliche Verbindungen erzeugte; am besten ist noch verdünntes Ammoniak.

Digitized by Google

In jedem Falle müssen die zur Unschädlichmachung benutzten Reagentien möglichst indifferent sein; der Beweis hierfür ist durch besondere Versuche zu erbringen.

Im allgemeinen wird ein 10 Minuten langes Verweilen der Bakterien in der betreffenden Flüssigkeit genügen, um das Desinfektionsmittel unschädlich zu machen. Dann überträgt man die Granaten zur Abspülung in Schalen mit sterilisiertem Wasser und läßt sie ebenfalls 10 Minuten darin.

Hierauf werden sie zu je 5 Stück in graduierte Röhrchen (Fig. 201) gebracht, worin sich 3 ccm sterilen Wassers befinden. Sämtliche sechs Probierröhrchen werden gleichzeitig in einem Drahtröhrchen 3 Minuten lang energisch geschüttelt, wobei Sorge zu tragen ist, daß das Wasser nicht an den Wattestopfen spritzt, da es von ihm aufgesaugt wird, wodurch zahlreiche Bakterien dem Nachweis entzogen wären.

Zu der so erhaltenen Bakterienaufschwemmung fügt man 12 ccm verflüssigten und auf 42° abgekühlten Nähragar, gießt die Mischung in Kulturschälchen, läßt auf wagrechter Unterlage erstarren und bringt die Schalen mit dem Deckel nach unten in einen auf 37,5° erwärmten Brütschrank.

Fig. 201.

Nach 24 Stunden erfolgt die erste Zählung der aufgegangenen Kolonien, nach Ablauf des 2. und 3. Tages werden die hinzugekommenen notiert. Die Zählung hat unter dem Mikroskop zu geschehen (s. bei Wasser).

Der Agar soll der gleichmäßigeren Zusammensetzung halber nicht mit Fleischwasser, sondern mit Fleischextraktlösung bereitet und bis zum Phenolphthaleinpunkt mit Alkali versetzt sein; es wird ferner gefordert, daß das zu seiner Bereitung verwendete destillierte Wasser nicht in Berührung mit Metallen, insbesondere nicht mit Kupfer und Messing gewesen sein darf, es soll nur in Zinn- oder Glasröhren kondensiert worden sein.

Die Dauer der Desinfektion ist nach Vorversuchen zu bemessen. In diesen hat man die Zeit zu ermitteln, innerhalb deren die Desinfektionslösung so auf die Bakterien eingewirkt hat, daß nur noch eine oder zwei Kolonien auskeimen. Diesen Zeitraum soll man in fünf gleiche Abschnitte teilen und die Zahl der Minuten oder Stunden eines solchen mit 7 multiplizieren; dadurch erhält man erfahrungsgemäß die maximale Einwirkungszeit, nach deren Ablauf höchstwahrscheinlich keine Kolonie mehr aufkeimt.

Nach jedem Zeitabschnitt wird eine Anzahl Granaten aus der Lösung herausgenommen und in der beschriebenen Weise gewaschen, vom Desinfektionsmittel befreit und ausgesät. Die Desinfektionswirkung der Vergleichslösung prüft man nach den gleichen Zeiträumen.

Die Untersuchungen von Paul und Krönig haben gezeigt, daß die zur Abtötung der Bakterien nötige Zeit nicht proportional der Konzentration ist, d. h. halb so starke Lösungen brauchen nicht die doppelte Zeit, um denselben Desinfektionseffekt hervorzubringen, sondern mehr oder weniger. Beispielsweise waren von den hunderten oder tausenden eingebrachten Milzbrandsporen nach Einwirkung einer Quecksilberchloridlösung von 1 Grammolekel (= 271 g) gelöst in

16 l = 1,69 % in 14 Min. noch übrig 0 Keim
32 l = 0,84 „ „ 30 „ „ „ 0 „

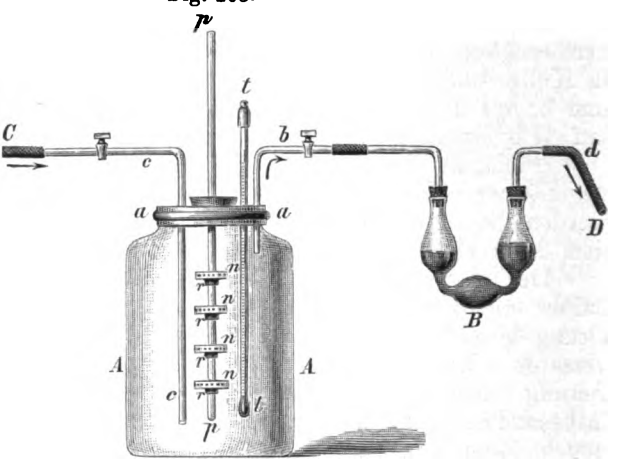
Digitized by Google

64 l = 0,42 % in 60 Min. noch übrig 1 Keim
128 l = 0,21 „ „ 80 „ „ „ 0 „
256 l = 0,11 „ „ 120 „ „ „ 2 Keime.

Das nähere ist in dem genannten Entwurf von Paul nachzusehen; hier sei nur noch zu Forderung 8 gesagt, daß, wenn chemisch einheitliche Stoffe vorliegen, zur Anfertigung der Lösungen molekulare Verhältnisse gewählt werden sollen, d. h. es soll die Konzentration der Lösungen in der Zahl der Liter angegeben werden, die so viel Gramm des betreffenden Stoffes enthalten, als sein Molekulargewicht beträgt. Da beispielsweise das Molekulargewicht des Quecksilberchlorids = 271 ist, so ist eine 256litrige Sublimatlösung eine solche, die 271 g in 256 l Wasser enthält, was etwas mehr ist als die übliche 1promill.

Fig. 202.

Fig. 203.



Sublimatlösung. Man geht von einer 8litrigen Lösung aus und verdünnt diese mit destilliertem Wasser in entsprechender Weise.

In Wasser unlösliche, sowie dampf- und gasförmige Mittel eignen sich zu einer exakten Desinfektionsprüfung nicht, da man ihre Mengenverhältnisse nicht genau feststellen kann. In der Mehrzahl der Fälle, in denen solche Prüfungen vorgenommen wurden, ist nur die entwicklungshemmende Wirkung in Betracht gezogen worden, eine solche wurde z. B. von W. D. Miller und E. v. Behring bei einigen Metallen, wie Gold, Silber, Quecksilber, gesehen, die in einem Umkreis von 0,4 bis 3 cm eine Entwicklung verschiedener Bakterien jedenfalls infolge von Auflösung geringer Spuren hintanhielten.

Eine hemmende Wirkung von Jodoform, sowie von Formaldehyd, Kreolin und Chloroform und ihrer Dämpfe auf in Entwicklung begriffene Kulturen des Choleravibrio hat H. Buchner erwiesen (C. 2. 361), indem er ein kleines, mit dem Mittel gefülltes Röhrchen in das größere einbrachte, das in seinem unteren Teil die bakterienhaltige Gelatine enthielt (Fig. 202). In ähnlicher Weise prüfte F. Loeffler (DmW. 91. 353) den entwicklungshemmenden Einfluß einer großen Anzahl ätherischer Oele auf Diphtheriebazillen derart, daß er die Watte-

Digitized by Google

stopfen der frisch geimpften (Bouillonserum-) Röhrchen innen mit dem Oel benetzte und dann eine Gummikappe überzog; von dem festen Thymol wurden Stückchen zwischen Stopfen und Gummimembran eingebracht. Man kann auch, wie F. Forné (AP. 93. 529) u. a. taten, Kulturschälchen zugleich mit anderen Schälchen, die das Desinfektionsmittel enthalten, unter eine Glasglocke setzen.

Th. Omeltschenko leitete mit Hilfe einer Wasserstrahlluftpumpe die Dämpfe ätherischer Oele über Kulturen auf schräg erstarrtem Agar. Das Oel in der Vorlage mußte, da es mit der Zeit an Verdampfungsfähigkeit einbüßte, alle 10 bis 12 Stunden erneuert werden. Eine Wägung des Oelbehälters im leeren, sowie im gefüllten Zustande vor und nach der Durchleitung der mit Chlorcalcium entwässerten Luft zeigte die Menge des verdampften Oels, eine Gasuhr die Menge der durchgesaugten Luft an. Hinsichtlich der näheren Beschreibung der Anordnung des ganzen Apparats muß auf das Original (C. 9. 813) verwiesen werden.

Rein gasförmige Körper, Rauch u. dergl. werden über oder durch geimpfte Nährböden oder über bakterientragende Seidenfäden u. dergl. geleitet, ähnlich wie bei der Einleitung des Wasserstoffs für anaerobe Züchtungen.

B. Fischer und B. Proskauer legten bei ihren Untersuchungen über die Desinfektion mit Chlor und Brom (KGA. Mittlg. 2. 228) mit Keimen getränkte Seidenfäden in siebförmig durchlöcherte Näpfchen von Paraffin (n der Fig. 203), die, auf Gummiringen (r) ruhend, an einem Glasstabe (p) übereinander gereiht waren. Durch eine zentrale Oeffnung in der festsitzenden Kautschukkappe a wurden sie in die Glasflasche A eingebracht; weitere Oeffnungen, sämtlich dicht verschließbar, dienten zur Einführung des Thermometers t, sowie des Gaszuleitungsrohres C und des Ableitungsrohres D, das mit einer Saugvorrichtung in Verbindung stand. Das Gas wurde vor seinem Austritt durch eine Absorptionsflüssigkeit B geleitet, in der später der Gehalt der abgesaugten Luftmenge an Gas maßanalytisch bestimmt ward.

Den Verhältnissen in der Wirklichkeit noch mehr entsprechend, hat man bakterienhaltige Seidenfäden oder frisch angelegte oder bereits entwickelte Kulturen an verschiedenen, mehr oder weniger zu Tage liegenden Stellen in einem Zimmer ausgelegt, worin die betreffenden Dämpfe (Chlor, schweflige Säure, Formalin u. s. w.) entwickelt wurden.

Die Untersuchungen im Kaiserlichen Gesundheitsamte ergaben, daß die schweflige Säure von Chlor- und Bromdämpfen an Wirksamkeit übertroffen wird. Sämtlichen diesen Mitteln aber haftet der Nachteil an, daß sie den zu desinfizierenden Objekten schaden, vornehmlich aber, daß sie nur bei Vorhandensein von Feuchtigkeit wirkend, an trockenen Gegenständen die Keime unversehrt lassen; in Ritzen, Fugen und Spalten ferner dringen diese Gase nicht ein, lassen also gerade dort im Stich, wo wir sie hauptsächlich brauchen. Infolgedessen sind die früher so häufig in Anwendung gezogenen Räucherungen mit schwefliger Säure als unzweckmäßig verlassen worden.

Eine wesentlich praktischere Bedeutung hat das Formalin gewonnen. Wenn es auch der schwefligen Säure sowohl hinsichtlich der Wirkung als auch in der Schonung der Gegenstände überlegen ist, teilt es mit ihr doch den Nachteil, daß es nur oberflächlich wirkt.

Digitized by Google

Und selbst diese Wirkung ist nur dann sicher zu erwarten, wenn ein vorgängiger, allseitig dichter Abschluß des betreffenden Raumes durch Dichtung, Verklebung und Verkittung aller Oeffnungen gemacht ist, gleichzeitig Wasserdampf entwickelt wird und genügende Mengen Formalin genügend lange einwirkten, wie es in den amtlichen Anweisungen zur Bekämpfung gemeingefährlicher Krankheiten u. a. vorgeschrieben ist.

Eine Zusammenstellung der bis dahin erschienenen Apparate und der Literatur findet sich bei O. Heß, Der Formaldehyd, seine Darstellung, Eigenschaften und seine Verwendung als Konservierungs-, therapeutisches und Desinfektionsmittel mit besonderer Berücksichtigung der Wohnungsdesinfektion (Marburg bei N. G. Elwert, 2. Aufl. 1901). Von den heute gebräuchlichen Apparaten sind zu nennen: System Berolina nach Proskauer und Elsner, der Breslauer Apparat nach Flügge, Colonia nach Czaplewski, der Apparat von Lingner.

Digitized by Google

III. Bakteriologische Diagnostik.

Einteilung der hier in Betracht kommenden pflanzlichen Kleinwesen.

Unter den pflanzlichen Mikroorganismen stehen die Bakterien im Vordergrunde des medizinischen Interesses. Der Sammelname Bakterien stammt von Davaine und wurde namentlich durch Ferd. Cohns*) Untersuchungen geläufiger und bekannter. Er drängte den Namen Schizomyzeten, der von Nägeli stammt, in den Hintergrund, nachdem dieser von Cohn in der Erwägung, daß die Bakterien keine Pilze seien, nicht angenommen worden war. Es war also die zweite Hälfte des Wortes, die Cohn beanstandete, die erste Hälfte, die die Art und Weise der Vermehrung durch Spaltung zum Ausdruck brachte, behielt er selbst bei und empfahl die Bezeichnung Schizophytae. Auch R. Koch erachtete es nicht für zweckmäßig, die Bakterien zusammen mit anderen als niedere Pilze und sie selbst als Spaltpilze zu bezeichnen, und teilte sie in kugelförmige Mikrokokken, stäbchenförmige Bazillen und schraubenförmige Spirillen ein. Will jemand den Namen Bakterium speziell für die nicht sporentragenden Stäbchen im Gegensatz zu den echten Bazillen, die als Sporenbildner von den nicht sporenbildenden Stäbchen scharf getrennt werden können, wählen, so kann trotzdem der Name Bakterien als Sammelname beibehalten werden, zumal da wir von der Aufstellung eines natürlichen Systems noch weit entfernt sind. Man kann aber auch auf den Nägelischen Namen Schizomyzeten zurückgreifen, da bei der nahen Verwandtschaft, z. B. mit den Trichomyzeten der Fehler mindestens nicht groß ist und durch die Bequemlichkeit der Uebereinstimmung im Ausdruck gerechtfertigt wird.

Eine gebräuchliche Einteilung, wie sie z. B. von K. B. Lehmann und R. O. Neumann in ihrem Atlas und Grundriß der Bakteriologie angenommen worden ist, unterscheidet drei Familien:

I. Coccaceae II. Bacteriaceae III. Spirillaceae

und in ihnen sieben Gattungen:

*) Beiträge zur Biologie der niederen Pflanzen, herausgegeben von F. Cohn, I. Bd., Breslau 1875, Heft 2. 146 und 3. 201.

Digitized by Google

I. Coccaceae	1. Nahezu Kugelformen; Teilung nach einer Richtung des Raumes:	Streptococcus,
	2. Teil.nach versch.Richtungen, ohne Streptokokk. od. Sarzinen zu sein:	Micrococcus,
	3. Teilung nach drei Richtungen des Raumes; Paketformen:	Sarcina.
II. Bacteriaceae	4. zylindrische Gebilde ohne Sporenbildung:	Bacterium,
	5. zylindrische Gebilde mit Sporenbildung:	Bacillus.
III. Spirillaceae	6. starre Schrauben oder Schraubenabschnitte:	Spirillum und Vibrio,
	7. biegsame, spiralig gewundene Fäden:	Spirochaete.

Die den Streptotricheen näherstehenden Tuberkelbazillen und ihre Verwandten, sowie die Diphtheriebazillen haben die genannten Autoren anhangsweise mit Aktinomyces zusammengestellt und als Mykobakterium (tuberculosis u. a.), sowie als Corynebakterium (diphtheriae u. a.) bezeichnet. Bei der Unmöglichkeit, eine scharfe Systematisierung vorzunehmen, habe ich es für geratener erachtet, bei der Kochschen schlichten Einteilung und Benennung, der in der medizinischen Literatur fast allgemein gefolgt wird, zu bleiben, insbesondere die Stäbchen insgesamt Bazillen zu nennen und sie lediglich in nicht sporenbildende und sporenbildende zu trennen.

Dagegen erschien es mir vorteilhaft, gewisse hervorstechendere Merkmale und Eigenschaften der Bakterien zu benutzen, um sie nach Haupt- und Untergruppen zu sichten und verwandte oder wenigstens mit ähnlichen Eigenschaften begabte so zusammenzubringen, daß sie immer und von jedem ohne langes Suchen leicht wieder gefunden werden können.

Wäre in dieser Beziehung schon früher nach bestimmten oder einheitlichen Gesichtspunkten geordnet worden, so würde sich die Vergleichung eines irgendwo gefundenen Bakteriums mit schon bekannten leichter und einfacher gestalten. So aber sind die verschiedenen Autoren irgend einer ihnen gut scheinenden oder von ihnen ersonnenen Einteilung oder gar keiner gefolgt, und man müßte, wenn man nach den vorliegenden, oft übrigens recht lückenhaften, gerade wichtige Merkmale vermissen lassenden Beschreibungen die Bestimmung eines irgendwo gefundenen Bakteriums vornehmen wollte, ganze Bände durchlesen. Nun ist zuzugeben, daß sich auf Grund rein morphologischer Merkmale kaum entscheiden läßt, ob ein außerhalb des Körpers gefundenes Bakterium mit einem bereits beschriebenen identisch ist. Bei Krankheitserregern läßt sogar der Tierversuch manchmal im Stich. Das sicherste Mittel ist die biologische Identifizierung mittels spezifischen bakteriolytischen oder agglutinierenden Serums, die sich aber nur bei einer recht beschränkten Anzahl von Mikroorganismen anstellen läßt oder lohnt.

So bleibt meist nur eine Annäherungsdiagnose übrig. Es ist aber schon etwas gewonnen, wenn man wenigstens sagen kann, dieses Bak-

Digitized by Google

terium gehört unter die und die Gruppe oder es ist noch keine Gruppe bekannt, unter die es einzureihen wäre. Mit dem von mir im nachfolgenden aufgestellten Schema gelingt es meistens leicht, eine gefundene Bakterienart an einen bestimmten Platz zu bringen.

Würde sich jemand der Mühe unterziehen, alle Bakterien, deren einschlägige Merkmale richtig beschrieben sind, zusammenzustellen, so ließe sich bei Neuauffindung irgend einer Bakterienart ohne große Umstände ermitteln, ob ähnliche schon bekannt sind oder nicht. In einer solchen Zusammenstellung brauchte bloß der Name des Bakteriums und des Autors, sowie der Literaturhinweis zu stehen. Für den Vorteil einer derartigen Liste habe ich ein Beispiel an einem aus Wasser gezüchteten Kapselbazillus, der mit ihrer Hilfe in einem Augenblick mit dem 10 Jahre vorher in Kieferhöhlen-Nasensekret gefundenen Bac. misothermus capsulatus (Herzfeld und Herrmann) Amp JG — in Vergleich gestellt werden konnte; er wurde von J. Poda als nahezu gleich mit ihm ermittelt (HR. 05. 1025).

Die Sichtung der Bakterien ist in jeder der sieben Gattungen dieselbe. Ohne weiteres kann man trennen:

A. Aerobier und AA. Anaerobier.

Alles was auf unseren Nährböden bei Luftzutritt wächst, gehört zu A. Wächst nichts, obgleich man im Ausgangsmaterial mikroskopisch Bakterien gesehen hat, so können diese entweder anaerobiotisch züchtbare oder unzüchtbare sein, was zu entscheiden ist.

Nicht züchtbare Arten werden lediglich nach einer Zugehörigkeit zu einer der sieben Gattungen bestimmt, außerdem nach ihrer vorhandenen oder mangelnden Bewegungsfähigkeit und nach ihrem Verhalten bei der Gramschen Färbung.

Die Beweglichkeit ist das nächste wichtige Merkmal. Mitunter ist es fürs erste nicht leicht, darüber ins reine zu kommen, ob Eigen- oder nur Molekularbewegung vorhanden ist; die Geißelfärbung wird darüber Aufschluß geben, mit der man gegebenenfalls feststellt, wie groß die Meistzahl der Geißeln ist und ob sie end- oder seitenständig sitzen.

Daß gelegentlich Stämme beobachtet worden sind, die nur unter gewissen Temperaturverhältnissen Bewegung und Geißeln zeigten, tut nichts zur Sache; man wird eine aufmerksame Beobachtung ohnehin bei verschiedenen Wärmeverhältnissen anstellen. Zudem ist es eine Erfahrungssache, daß Abweichungen von der Norm gewöhnlich erst bei längerer künstlicher Fortzüchtung vorkommen; am reinsten sieht man die Verhältnisse immer bei den frisch aus den natürlichen Verhältnissen erhaltenen Keimen.

Die Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen oder festzulassen, steht an Wertigkeit hinter der Beweglichkeit zurück. Denn diese Eigenschaft kann sich ändern, meist und vielleicht immer in dem Sinne, daß eine Art mit Peptonisierungsvermögen diese Eigenschaft allmählich verliert. Ein Wechsel in der Bildung von peptonisierendem Ferment ist bei den Proteusarten beobachtet worden. Ist die betreffende Eigenschaft auch nur einmal zweifellos festgestellt worden, dann hat die Einreihung in die betreffende Gruppe, hier der peptonisierenden Bakterien stattzufinden.

Digitized by Google

Um die Hauptmerkmale eines Bakteriums rasch zu charakterisieren, empfiehlt es sich, folgende weitere Buchstabenabkürzungen zu wählen:

i = immobilis, unbeweglich;
m = mobilis, mittels Geißeln beweglich.

Jede Abteilung zerfällt in die zwei Unterabteilungen:

nl = non liquefaciens, die Gelatine festlassend;
p = peptonificans, die Gelatine peptonifizierend, d. h. verflüssigend oder auch nur, selbst bloß in geringem Grade, erweichend.

In jeder Unterabteilung müssen dann noch viele Gruppen gebildet werden. Die für ihre Aufstellung maßgebenden Gesichtspunkte können die allerverschiedensten sein, wenn sie nur hervorstechend genug sind. Manche sind so auffallend, daß sie schon von jeher zur Gruppierung verwendet worden sind, wie das Farbstoffbildungs-, das Leucht-, das Milchsäuerungsvermögen, die Eigenschaft, nur bei höheren Wärmegraden zu wachsen, die Bildung eigentümlicher Kolonien, gewisse pathogene Aeußerungen, die Säurefestigkeit, gewisse morphologische Merkmale, wie Keulenform, Kapselbildung u. s. w.

Derartige Gruppen sind oft verschiedenen Unterabteilungen gemeinsam, so gibt es z. B. Farbstoffbildner unter den beweglichen und unbeweglichen, unter den Gelatine verflüssigenden und festlassenden Arten.

Schließlich läßt sich noch innerhalb der Gruppen eine Ordnung der einzelnen Arten durchführen. Bei den Farbstoffbildnern ist sie von selbst durch die Verschiedenheit der Farben gegeben, in anderen Fällen läßt sich das Verhalten gegenüber der Gramschen Färbung verwenden; da es aber bei vielen Bakterien nicht ausgesprochen und eindeutig ist, kann dieses Merkmal höchstens ein untergeordnetes sein; ich bezeichne es mit:

JG $-$ = der Jodgentianafarbstoff wird durch Alkohol ausgezogen;
JG $+$ = der Farbstoff bleibt nach Alkoholspülung;
JG $\pm$ = der Farbstoff bleibt nur unter gewissen Bedingungen, oder er wird durch Alkohol ausgezogen, nicht aber durch Anilinöl. Je nachdem $+$ oder $-$ das überwiegende ist, kann man schreiben JG $\pm$ oder JG $\mp$ (vergl. S. 49).

Das nachfolgende Schema ist nur mit einem kleinen Teil der bekannten Bakterien ausgefüllt, bloß um zu zeigen, wie man eine Uebersicht zu geben vermag. Eine nähere Beschreibung konnte sich dem Umfang und Zweck des Buches entsprechend nur auf wichtige Krankheitserreger erstrecken und diese ist nach Maßgabe des Bedürfnisses im Abschnitt über den Nachweis von Kleinwesen im Körper erfolgt.

Bakterien (Schizomyzeten).

I. **Mikrokokken.**

1. **Streptokokken.** Mehr oder weniger runde Gebilde, meist als Diplokokken hintereinander gelagert. Ist die Anzahl der zu einer Kette verbundenen Paare gering, nicht mehr als etwa 2 bis 6, spricht man von Str. brevis, sind die Ketten von 20 bis 50 und mehr Paaren

Digitized by Google

gebildet, spricht man von Str. longus. Uebergänge können als mittellange Streptokokken bezeichnet werden. Manchmal sind die Kokken auffallend platt gedrückt und dick oder einzelne sind auffallend gequollen. Die Kolonien sind meistens klein und zart, manche wachsen auf Gelatine gar nicht.

A i nl.

Kurze Streptokokken: Pneumokokken und verschiedene Entzündungs- und Eitererreger.

Mittellange und lange Streptokokken: Streptokokken des Erysipels, und verwandte. Saprophytische, z. B. im Munde vorkommende.

Kapselstreptokokken: Strept. mucosus.

i p.

Kurze Streptokokken

m nl —

m p —

A A —

2. **Staphylokokken** (Mikrokokken im engeren Sinne).

Runde oder annähernd runde Körperchen, zu Häufchen liegend, oft in traubenförmiger Anordnung, dazwischen kurze Kettchen nachahmend. Teilung nicht bloß nach der Länge, sondern auch nach der Quere. Diese Querteilung verleiht, wenn sie nicht vollständig geworden ist, und wenn zwei oder mehrere Paare nebeneinanderliegen, dem Gebilde das Aussehen von Tetradenkokken. Die Staphylokokken bilden größere Kolonien als die Streptokokken. Es gibt Farbstoffbildner unter ihnen.

A i nl.

Gruppe der intrazellularen Kokken: Microc. gonorrhoeae, meningitidis, catarrhalis.

Harnmikrokokken: Micrococc. ureae (v. Leube), Micrococc. vesicae (Heim)

Micrococcus tetragenus s. unter Sarzinen.

Farbstoffbildner: gelbe, blaue, rote.

i p.

Mikrokokken mit hämorrhagischer Wirkung (E. Klein, C. 22. 81).

Harnmikrokokken.

Weiße Staphylokokken.

Farbstoffbildner: Staph. pyogenes aureus und seine Farbrassen.

Kapselmikrokken: Micrococcus ascoformans (Kitt), Microc. involut. tetragenus (Kurth, KGA. Arb. 8. 458).

m nl

Micrococc. tetragenus mobilis (A. Mendoza, C. 6. 566; vielleicht eine Sarzineart).

Farbstoffbildner: gelb: Micrococc. agilis citreus.
rot: Micrococc. agilis ruber.

Digitized by Google

m p

Micrococcus meningitidis equi (Siedamgrotzky und Schlegel, Cr. 20. 694).

A A i nl

Mikrokokken aus puerperalem Uterussekret (B. Krönig).

3. Sarzinen.

Nach drei Richtungen des Raums wachsend und warenballenförmig eingeschnürte Würfel darstellend. Besonders im hängenden Tropfen sieht man sie von einer hellen Zone (Kapsel) umgeben. Färbung mit Methylenblau und rasche Nachfärbung mit ziemlich verdünntem Bismarckbraun stellt blaue Körnchen im braunen Zellleib dar. Bei einer Art (Sarcina pulmonum) sind von G. Hauser Sporen nachgewiesen worden, doch läßt sich dieser eine Befund vorläufig noch nicht zu einer systematischen Einteilung verwerten. Die meisten bilden Farbstoff, in der Mehrzahl gelben, seltener roten. Die Kolonien sind charakteristisch durch ihre bei schwacher Vergrößerung erscheinenden isoliert gelagerten Körperchen am Rande, die bereits die Sarzineform andeuten (Taf. II, Fig. 11).

A A i nl.

Sarcina alba.
Micrococc. tetragenus.
Farbstoffbildner: Sarc. lutea, erythroxoma u. a.

i p

Farbstoffbildner: Sarc. viridis flavescens, aurantiaca, rubra.

m nl Verschiedene Arten bekannt, darunter auch Sarc. pulmonum.
m p Verschiedene Arten.
A A. —

II. Bazillen.

4. Nichtsporenbildende Bazillen (Bakterien im engeren Sinne).

Stäbchen verschiedener Länge, teils einzeln, teils zu kürzeren oder längeren Scheinfäden vereinigt. Herrscht die Neigung zu Scheinfädenbildung vor, so spricht man auch wohl von Streptobazillen. Form, Größe und Zeichnung der Kolonien sehr verschieden.

A i nl.

Säurefeste und säure-alkoholfeste Tuberkel-, Smegmabaz. u. a.
Hämophile: Influenza-, Koch-Weekssche Bazillen, B. ulceris mollis u. a.
Keulenförmige: Diphtherie-, Xerosebazillen.
Baz. der hämorrhagischen Septikämie: Baz. der Pest, Purpura, Schweineseuche, Wildseuche u. s. w.
Kapselbazillen: Bac. Friedländeri, ozaenae, rhinosklerom.
Baz. der Koligruppe: B. coli immobilis.
B. dysenteriae.
milchsäuernde Bazillen.
Thermophile mit dem Temp.-Optimum bei 55 bis 67° (s. Karlinski, HR. 5. 686).

Digitized by Google

Farbstoffbildner: fluoreszierende, gelbe, rote.
Leuchtbazillen.

i p

Schweinerotlauf- und Mäuseseptikämiebazillen.
Rotzbazillen (erweichen Gelatine) und ihnen ähnliche.
Bac. salmonicida (Emmerich und Weibel, AfH. 21. 1).
Farbstoffbildner: fluoreszierende, blaue, gelbe, rote.

m nl

Baz. der Typhus- und Koligruppe.
Farbstoffbildner: fluoreszierende, blaue, gelbe.
Leuchtbazillen.
Proteusarten: Bac. Zopfii; B. pyog. ramos.; Proteus Zenkeri.

m p

Proteusarten: Proteus vulgaris, Proteus mirabilis; Proteus fluorescens.
Farbstoffbildner: fluoreszierende, blaue, gelbe, braune, rote (z. B. Bac. prodigios.).
Leuchtbazillen.
Kapselbazillen: Bac. misotherm. capsul. (s. S. 305).

AA. i nl

Anaerobe Xerosebazillen.
Spießförmige: Bac. fusiformis.

i p —
m nl —
m p —

5. Sporenbildende Bazillen (Bazillen im engeren Sinne).

Stäbchen, deutlich länger als breit, deren Länge die Breite oft um ein Vielfaches übertrifft. Die ovalen oder mehr runden hellglänzenden widerstandsfähigen Sporen können mittel- oder endständig sein je nach den verschiedenen Arten. In einem Stäbchen ist zumeist nur eine Spore (Ausnahme S. 187).

A i nl

Thermophile Bazillen; verschiedene Arten aus Wasser, bei 60 bis 70° gedeihend.

i p

Bac. anthracis.

m nl

Bac. erythrosporus.

m p

Thermophile Bazillen aus Wasser, bei 54 bis 58° gedeihend (s. M. Teich, HR. 96. 1094).
Gruppe der Heubazillen.
Bac. megatherium.
Wurzelförmige Kolonien bildend: Bac. mycoides.
Bac. mesentericus vulgatus u. a. sogenannte Kartoffelbazillen.

Digitized by Google

A A i nl

Bac. aerogenes caps.

i p —

m nl

Buttersäurebazillen.
Bac. oedemat. maligni.
Bac. sarcophysematos.
Köpfchensporenbildende: Bac. tetani u. a. Bodenbewohner.
Bac. botulinus.

III. Spirillen.

6. Spirillen (im engeren Sinne) und Vibrionen.

Korkzieherähnliche starre Gebilde mit flacheren oder steileren Windungen (Spirillum) oder nur Abschnitte von ihnen: Viertelsschraubenwindungen (Vibrio). F. Loeffler hat zwischen Spirillum und Vibrio auf Grund der Form der Geißeln unterschieden und als Spirillum die schraubenförmigen Bakterien mit kurzen haarförmigen, gebogenen Geißeln bezeichnet, die nicht mehr als eine wellige Biegung zeigen und wohl immer in größerer Zahl vorhanden sind, als Vibrio die gekrümmten Bakterien, deren Geißeln zwei oder mehrere wellige Biegungen haben (C. 6. 216). Solche können, wie sich später zeigte, entweder einzeln vorhanden sein, wie bei Vibrio cholerae, oder zu mehreren an einem Pole sitzen, wie bei Vibrio Massauah, einem einst für echte Cholera gehaltenen Stamm.

Da die Form und Zahl der Geißeln nicht bei allen bekannt ist, wurde hier Spirillum und Vibrio zusammengenommen.

A i nl

Vibrio nasalis, V. lingualis, V. saprophiles (E. Weibel, C. 2. 466 und 4. 225).
Spirillum pyogenes.
Farbstoffbildner (s. E. Weibel, C. 4. 258).

m nl

Spirillum undula majus und minus (Zettnow und Kutscher, C. 19. 373 und 171); Spir. rugula; Spir. concentricum (Loeffler, Kitasato, C. 3. 73); Vibrio terrigenus (C. Günther, HR. 4. 721); Spir. parv. (v. Esmarch).

m nl

Farbstoffbildner: gelb: Vibrio tonsillaris (Stephens und Wood Smith (C. 19. 929).
rot: Spir. rubr. (v. Esmarch, C. 1. 225).

m p

Spirill. volutans (Cohn), Spir. serpens u. a.
Vibrio cholerae.
Vibrio Metschnikoff, Vibr. proteus (Prior-Finkler), V. Massauah und verschiedene Wasservibrionen.
Leuchtvibrionen.

AA. m nl

Spirillum nigrum (E. Rist).

Digitized by Google

7. Spirochäten.

Spiralig oder peitschenschnurähnlich gewundene, biegsame Fäden mit Eigenbewegung. Die Geißeln finden sich, soweit sie bisher nachgewiesen werden konnten, endständig, in Verbänden machen sie zwar den Eindruck der Seitenständigkeit, sie sitzen aber tatsächlich nur dort, wo sich die Enden zweier Individuen noch berühren. Diese werden bei der Teilung allmählich dünner und feiner bis sie sich ganz auseinandergezogen haben (E. Zettnow, ZfH. 52. 485). Die Züchtung außerhalb des Körpers gelang meist nicht. Die wichtigsten sind:

Spirochaete Obermeieri.

Spirochaete pallida (F. Schaudinn und E. Hoffmann), bei Syphilis gefunden, in Geschwüren u. dergl. zusammen mit anderen, wie Spirochaete refringens.

A A i Zahnspirochäten (P. Mühlens).

Trichomyzeten.

Der Name ist von J. Petruschky für eine Gruppe von Mikroorganismen vorgeschlagen worden, die man bisher entweder unter die Hyphomyzeten eingereiht oder denen man eine besondere Stelle zwischen diesen und den Schizomyzeten zuerkannt hat. Es sind fadenförmige Gebilde mit echten Verzweigungen, die entweder spitz oder mit einer kolbigen Anschwellung endigen und in ihrem Breitendurchmesser die Bakterien nicht oder nicht beträchtlich übertreffen.

Diese Eigentümlichkeiten kommen vielen Bakterien unter gewissen Ernährungsbedingungen zu, darum ist man geneigt, solche, und zwar insbesondere die Tuberkel-, Rotz-, Diphtheriebazillen und ihre Verwandten hierher zu rechnen.

Verzweigungen sind bei einer Anzahl von Bakterien beobachtet worden (s. H. Conradis Zusammenstellung ZfH. 33. 174), außer bei den genannten Stäbchen bei Spirillen (s. H. Reichenbach, C. 29. 553); in den beigegebenen Photogrammen sind sie Taf. V, Fig. 29 bei Bac. lactis aerogenes zu sehen, ja sogar bei dem Streptococcus pyog. Taf. II, Fig. 10 erkennt man sie. Auf Grund dieses Befundes wird man sie aber nicht aus der Klasse der Bakterien herausnehmen wollen.

1. Streptothrix.

Mit diesem Namen belegte Ferd. Cohn eine von Foerster im entzündeten Tränenkanal gefundene Pilzart. Er ist dieser Gattung geblieben. Den vielen saprophytischen und parasitischen Arten dieser fadenartigen Mikroorganismen ist die Bildung echter Verzweigungen eigen; ob die innerhalb und außerhalb der Fäden gelegenen, mit Anilinfarben verhältnismäßig leicht färbbaren Gebilde, denen keine besonders hohe Widerstandsfähigkeit zukommt, Sporen sind, wird von mehreren Forschern noch bezweifelt.

Die pathogenen Arten unterscheiden sich in ihrer Wirkung im Körper insoferne untereinander, als die einen hauptsächlich pyogene Eigenschaft äußern, die anderen die als Aktinomykome bekannten Geschwülste mit Einlagerung gelblicher Körnchen bilden, die nach dem Zerdrücken die charakteristischen Pilzdrusen im ungefärbten Präparat schon mit stärkerem Trockensystem erkennen lassen. In Schnitten

Digitized by Google

erscheint das in einen Kolben zusammentretende dicht verfilzte Fadengeflecht, das nach Gram färbbar ist; am Ende der Fadenausläufer sitzen die in der Gegenfarbe erscheinenden Keulen; sie begrenzen den ganzen Kolben ringsum als fingerförmige Gebilde.

Die Ansiedlungen auf den gebräuchlichen Nährmitteln, auf denen viele saprophytische Arten leicht zu züchten sind und nicht selten als Luftverunreinigungen angehen, sehen derb, trocken und gerunzelt aus, sind weiß oder farbig (oft braun), nach längerer Entwicklung mit einem weißen Flaum besetzt und riechen schimmelartig, jedoch ganz eigentümlich streng und so stark, daß die betreffenden Reagenzglaskulturen unter vielen anderen dadurch auffallen. Es gibt verflüssigende und nicht verflüssigende Arten, die sich im Wasser, Boden, Fehlboden und in der Luft finden. Auf ihre nähere Beschreibung kann nicht eingegangen werden (das Aussehen in der Kultur zeigt Taf. IV, Fig. 22). Von den pathogenen seien nur einige kurz genannt:

m n l

Streptothrix asteroides, von H. Eppinger als Cladothrix asteroides beschrieben; er fand sie bei einem mit Pseudotuberkulose und Zerebrospinalmeningitis nach metastatischem Gehirnabszeß verstorbenen Glasschleifer.

i n l

Streptothrix Madurae.

i p

Actinomyces hominis, bovis etc. Beim Tier von O. v. Bollinger 1877 entdeckt, ein Jahr später von J. Israel beim Menschen gefunden.

2. Leptothrix.

Diese in der Mundhöhle anzutreffenden Mikroorganismen sind steife, unverzweigte, fadenähnliche Gebilde, die sich mit Jodlösung gelb färben. Es gibt auch fadenartige Mikroorganismen, die sich mit Jod violett färben; sie sind bei Munderkrankungen wiederholt in körnerartigen Gebilden gefunden worden, die in ihrem Aussehen an Aktinomyceskörner erinnerten (s. unter Auswurf). Genaueres läßt sich über sie nicht erfahren, weil ihre Züchtung bis jetzt nicht gelungen ist.

3. Thiothrix (Winogradsky).

Sie kommt neben den eigentlichen Schwefelbakterien (s. z. B. Chromatium Okenii) in Flüssigkeiten vor, die Schwefelverbindungen enthalten, aus denen sie den Schwefel abspalten und aufnehmen. Die haarartigen Gebilde zeigen einen Gegensatz zwischen Spitze und breiter Basis, die Fäden sind 0,5 bis 2,5 μ dick und unbeweglich, doch kriechen abgegliederte Fäden weiter und bilden an anderen Stellen rasenartige Ansiedlungen.

Beggiatoa gehört zu dieser Gattung. Sie wird sehr häufig bei mikroskopischen Untersuchungen von Wässern gefunden und zeigt die Einlagerung von Schwefel; sie hat langsam kriechende oder schwingende Bewegung. Von den verschiedenen Arten ist die meistgenannte Beggiatoa alba.

Digitized by Google

4. Crenothrix (Cohn).

Gibt in eisenhaltigen Wässern zur Entstehung umfangreicher, durch Einlagerung von Eisen rot oder braunschwarz gefärbter Massen und dadurch unter Umständen zu Störungen in der Röhrenleitung Veranlassung. Die Fäden haben deutliche Scheiden, innerhalb deren kleine oder größere rundliche Sporen entstehen, die am Ende des Fadens oft frei austreten.

5. Cladothrix (Cohn).

Aehnlich der vorigen, besitzt aber als Merkmal die sogenannte falsche Astbildung, d. h. die scheinbaren Verästlungen stellen sich bei genauerem Zusehen als aneinander gelagerte Fäden heraus. Häufig im Wasser zu finden.

Blastomyzeten.

1. Saccharomyces.

Die Sproßpilze haben ihren Namen von der Art ihrer Fortpflanzung, die derart vor sich geht, daß an irgend einer oder an mehreren Stellen der rundlichen oder ovalen Zelle eine neue hervorsproßt, die erst wie eine blasenartige Vortreibung aussieht, bald aber größer wird, die Gestalt der Mutterzelle bekommt und sich dann entweder von ihr trennt oder mit ihr verbunden bleibt; mehrere derartige, unter sich in Zusammenhang gebliebene Zellen heißen Sproßverbände. Im Inneren der von einer Membran umgebenen Hefezelle findet man eine oder einige Vakuolen, die nicht selten lebhaft tanzende Körnchen einschließen (s. S. 184), ferner Fettkörnchen, Kerne und metachromatische Körperchen; nach Methylenblaufärbung erscheint oft ein ganzer Bezirk der Zelle tiefrot. Sporen werden insbesondere bei eintretendem Mangel an Nährmaterial gebildet, man erhält sie nach E. Chr. Hansen durch Aufstreichen von Hefebrei auf sterilisierte Gipsblöcke, die man in sterilem Wasser bedeckt stehen läßt. Die Hefen gedeihen auf gewöhnlichen Nährböden, besonders auf Bierwürze- und auf Kartoffelgelatine gut. Sie bilden vielfach weiße, über die Oberfläche buckel- und selbst zapfenartig hervorragende, die Gelatine meistens nicht verflüssigende Ansiedlungen von charakteristischem Geruch, die bei schwacher Vergrößerung wegen ihrer Undurchsichtigkeit schwarz oder grau sind und keine Zeichnung erkennen lassen mit Ausnahme am Rande, wo sich ähnlich wie bei Sarzinen oder bei Micrococc. tetragenus dicht gelagerte, aber doch isolierte Krümelchen oder Körner befinden. Farbstoffbildende Hefen gibt es verschiedene, sehr häufig findet sich Rosahefe als Luftverunreinigung auf unseren Kulturplatten ein; es gibt ferner rote und schwarze Hefen.

Bestimmte Hefearten sind als Erreger der alkoholischen Gärung wichtig, die, wie E. und H. Buchner nachgewiesen haben, durch den ausgepreßten Zellsaft, die Zymase, auch ohne Anwesenheit lebender Hefezellen hervorgerufen werden kann. Die auf der Oberfläche von

Digitized by Google

gärenden Flüssigkeiten erscheinende Decke, die sogenannte Kahmhaut, besteht vorwiegend aus Hefe verschiedener Arten. Von Gärungserregern seien genannt:

Saccharomyces cerevisiae, eine Oberhefe, die bei 11 bis 37° wächst, rasch Alkohol und Kohlensäure bildet und in der Weißbierbrauerei, sowie in der Bäckerei gebraucht wird;

Saccharomyces Pastorianus I, eine untergärige Hefe, bei 3 bis 30° wachsend und nicht so stürmisch vergärend, für Braunbier;

Saccharomyces ellipsoideus, eines der bei der Gärung von Most in Betracht kommendes Kleinwesen.

In medizinischer Hinsicht haben die Hefen insofern Bedeutung, als man verschiedentlich versuchte, sie therapeutisch gegen bakterielle Infektionen anzuwenden und weil einige von ihnen krankheitserregend wirken. Zweifellos werden von ihnen unter Umständen Darmkatarrhe erregt, doch ist man dieser Frage seit J. Neumayer (AfH. 12. 1) noch nicht weiter nachgegangen.

Viel wichtiger ist die verhältnismäßig spät entdeckte Tatsache, daß es Hefearten von ausgesprochen pathogener Wirkung gibt. Nachdem sich solche bei gewissen Krankheiten von Menschen und Tieren gezeigt hatten, sind verschiedene Kulturhefen daraufhin geprüft worden; L. Rabinowitsch hat von 50 Stämmen 7 für Mäuse und Kaninchen pathogen gefunden. Eine von E. Klein aus Milch isolierte Hefeart, die für Mäuse, Kaninchen und Meerschweinchen und selbst für Hunde pathogen war und bei Meerschweinchen nach Einbringung in den Konjunktivalsack heftige Entzündung hervorrief, ist von E. Cohn einer besonderen Untersuchung unterzogen worden (C. 31 und 34. 224).

Saccharomyces Busse wurde von diesem Autor 1894 aus einem Knochenherde an der linken Tibia und aus Metastasen in inneren Organen bei demselben tödlich verlaufenen Fall isoliert. Die kugligen Zellen dieser Art lassen sich insbesondere auf sauern Nährböden, wie Pflaumengelatine und -Agar, leicht züchten, wachsen noch bei 10°, am besten bei 37° und vergären Zucker. Im Körper sind sie, wie das auch bei anderen pathogenen Hefearten beobachtet wurde, von einer breiten Kapsel umgeben, die einen oder mehrere konzentrische Ringe hat. Man erkennt sie am besten im frischen Präparat nach Zusatz von 1- bis 3proz. Essigsäurelösung, während Färbungen nur mangelhaft ausfielen. Von Versuchstieren erwiesen sich Mäuse und Ratten als empfänglich, jedoch starben sie erst nach mehreren Wochen oder Monaten und zwar weniger mit Gewebsveränderungen, als mit großen geschwulstartigen Wucherungen der eingeimpften Hefen, die insbesondere dann statthatten, wenn der Körper durch andere Einflüsse, z. B. Trächtigwerden und Säugung der Jungen, geschwächt wurde. Bei länger dauernden Infektionen war die Schädelhöhle in hervorragendem Maße der Sitz jener Hefewucherungen (nach O. Busse, Handb. 1. 661).

2. Oidium.

Die Eischimmel gehören streng genommen nicht mehr zu den Saccharomyzeten, stehen ihnen aber nahe. Sie sind bereits Uebergänge von den Blastomyzeten zu den Hyphomyzeten. Sie bilden im

Digitized by Google

Myzel walzenförmige Körper mit Vakuolen, Körnchen und auf Methylenblau metachromatisch wirkenden Substanzen im Innern. Manchmal sieht man noch einen längeren Faden, meist aber reihenweise gelagerte, oft in winkliger Knickung aneinandergereihte Zellen, die da und dort seitliche Sprossungen erkennen lassen (Taf. XII. Nr. 70). Am verbreitetsten ist das Oidium lactis, das aus jeder spontan säuernden Milch leicht durch Züchtung zu erhalten ist; mit der Säuerung hat es nichts zu tun. Es kann auf allen Nahrungsmitteln vorkommen, zu deren Bereitung ungekochte Milch verwendet wurde. Mitunter begegnet man ihm in Aussaaten von normalen Fäces.

Oidium albicans, der Erreger des Soors, ist in seiner Stellung im System noch nicht sicher. Denn man sieht in den Kulturen sowohl Fadenmyzel, als auch hefeartige Vorsprossungen (s. Taf. XII, Fig. 71).

Es gibt verschiedene Varietäten. B. Fischer und C. Brebeck beschrieben deren zwei; die eine zeigt in Bierwürzegelatine (nicht in gewöhnlicher Gelatine) Peptonisierung, d. h. Erweichung, bildet Chlamydosporen und tötet Kaninchen nach intravenöser Injektion. Sie ist von H. C. Plaut (s. Handb. d. path. Mikr. 1. 579) und anderen als großsporige Varietät beschrieben worden und die weitaus häufigere. Die andere, Bierwürzegelatine nicht verflüssigende Varietät ist kleinzellig und wurde von Fischer und Brebeck in 6 Fällen einmal gefunden.

Hyphomyzeten.

1. Achorion Schoenleinii.

Favus sollte nach den früheren Ansichten von mehreren Erregern hervorgerufen werden, F. Král hat dagegen die Lehre von der Einheitlichkeit, aber Polymorphie des Pilzes mit Erfolg vertreten. Nach ihm wachsen aus den runden oder ovalen, fein granulierten, mit einer Membran versehenen Konidien Hyphen aus, die sich gablig teilen und verzweigen, an den Enden kolbige Anschwellungen haben und nach vorangegangener Septierung und Körnung wieder in Konidien zerfallen. Vorher entstehen an einigen Endanschwellungen oder seitlich an den Hyphen gelbe, nicht lichtbrechende, mit fein gekörntem Inhalt angefüllte Körperchen, die nach etwa 3 Tagen platzen und gelbe Granula austreten lassen (Ueber die Züchtung aus Scutula s. S. 324).

Nach H. C. Plaut hat man in den Kulturen zwei Haupttypen zu unterscheiden:

1. den Wachstyp; gelbliche Kuchen von wachsartiger Beschaffenheit mit radiären Falten und zentralen Erhebungen. Luftmyzel fehlt in der Regel, doch kommt es mitunter zu einem kurzen Flaum (Menschenfavus, Achorion dikroon Unna);

2. den Flaumtyp; weiße, mit hohem Flaum bedeckte Scheiben mit zentralen, unregelmäßigen Erhebungen; Farbe wechselnd, grünweiß, rötlich, gelb. Bildet ein Bindeglied zwischen Favus und Trichophytiepilzen (Mäusefavus, Achorion entythrix Unna).

Der Wachstyp geht mitunter in den Flaumtyp über, aber der letztere scheint eine große Konstanz zu besitzen. Gelatine wird langsam verflüssigt oder erweicht; hierbei bildet sich manchmal ein dunkel-

Digitized by Google

gelblicher bis rötlicher Farbstoff, der regelmäßig auf Agarstrichkulturen auf der Kehrseite sichtbar ist. Bestes Wachstum bei 35°; Hundefavus wächst bei 12 bis 13°. Die Favuspilze bedürfen zu ihrer Ernährung Stickstoff in reichlicher Menge und wachsen auf reiner Kohlehydratnahrung nur kümmerlich. Bei 60° sterben sie in wenigen Sekunden ab.

Laboratoriumstiere sind empfänglich, am meisten graue Mäuse, die schon nach Fütterung Scutula am Kopfe bekommen. Sabouraud empfahl Impfung an der Schwanzwurzel. Einspritzung in die Venen oder Bauchhöhle macht bei Kaninchen Pseudotuberkulose der Lungen oder des Bauchfells (nach H. C. Plaut, Handb. d. pathog. Mikr. 1. 608).

Favusähnliche oder Kerionpilze sind die Erreger der Sycosis parasitaria (die Syc. non parasitaria wird nicht durch Fadenpilze hervorgerufen). Hinsichtlich der näheren Beschreibung sei auf H. C. Plaut (das. S. 633) verwiesen. Durch Behandlung mit abgetöteten Kulturen haben A. Neisser und Plato Besserung der Krankheitserscheinungen erzielt.

2. Trichophytiepilze.

Es gibt verschiedene Varietäten, die die verschiedenen Erkrankungsformen bei Menschen oder Tieren hervorrufen. Nach der Darstellung von Plaut (Handb. d. path. Mikr. 1. 621) ist die Kopftrichophytie durch den Mikrosporonpilz, der in verschiedenen Varietäten vorkommt, Mikrosporon Audouini (Gruby-Sabouraud) u. a. bedingt; ein Merkmal bei den Kulturen sind die Anschwellungen einzelner Myzelien.

Die eigentlichen Trichophytonpilze erscheinen auf Agar als schöne, vielstrahlige Sterne, mit scharfen, unregelmäßig langen Strahlen und mit gelblichroter bis braunschwarzer Farbe. Gelatine wird, wie von allen hierher gehörigen Pilzen, verflüssigt. In der feuchten Kammer (s. S. 324) keimen aus den Sporen Myzelien, die niemals so zahlreiche Anschwellungen wie Mikrosporon zeigen. Nach 60 bis 96 Stunden, verschieden je nach der Varietät, beginnt die Ektosporenbildung. Aus dem Zentrum und aus dem Randrasen wachsen feine Lufthyphen, die sich traubig, oft auch winklig verzweigen und sehr kleine runde Sporen von 1,5 bis 3 μ seitlich an kleinen Stielen abschnüren. Neben diesen „Botrytissporen" bilden einige Arten noch massenhafte Spindelsporen mit und ohne Härchen. Der Polymorphismus ist enorm, besonders launisch ist die Pigmentbildung.

Die Trichophytiepilze wachsen bei 20 bis 24° beinahe ebensogut wie bei Körpertemperatur und auf stickstoffarmer aber kohlehydratreicher Nahrung vorzüglich; hierin unterscheiden sie sich von Favus und favusähnlichen Pilzen.

Mikrosporon furfur, der Erreger der Pityriasis versicolor,

Mikrosporon minutissimum, der Erythrasmapilz und andere Pilze von sogenannten Saprophytien haben weder unter sich, noch zu den vorher genannten Arten Beziehung. Die Züchtung des Mikrosporon furfur gelang Spietschka durch Aussaat von zerriebenem Material (mit Kieselsäure nach Král s. S. 324) auf Harnagar (1 : 10), doch soll sie nach Matzenauer sehr selten von Erfolg sein.

Digitized by Google

Schimmelpilze.

Von ihnen seien nur wenige Arten genannt, die entweder wegen ihres häufigen Vorkommens als Luftverunreinigungen oder weil sie sich mitunter im Körper ansiedeln und sogenannte Mykosen verursachen, für uns wichtig sind, nämlich Mucor, Aspergillus und Penicillium; über Oidium s. S. 314 f. Zuvor noch einiges über Züchtung und Benennung.

Als Nährböden eignen sich die gewöhnlichen, doch verwendet man vorteilhafter saure, wie Kartoffeln, Brotbrei, Gelatine oder Agar mit Pflaumeninfus, Bierwürze u. dergl.

Vor der Aussaat auf Platten bringt man die Schimmelpilzsporen einen Moment mit absolutem Alkohol in Berührung, da sie Wasser sehr schwer annehmen (Rosenbach). Da Schimmelpilze aus der Luft oft auf unseren Platten zu finden sind, muß man die Kulturen mit besonderer Vorsicht anlegen und bei der Beurteilung der gewachsenen skeptisch verfahren. Die Abimpfungen werden auf gewöhnliche Weise in Reagenzröhrchen gemacht. Will man die Wachstumsvorgänge und die Sporenbildung der Reinkultur weiter verfolgen, so kann man sich der folgenden beiden Methoden von Unna bedienen (Monatshefte f. pr. Derm. 88. 465):

Minimalkulturen, d. h. Kulturen mit minimalen Nährböden: schräg erstarrter Agar wird stichförmig zwischen Nährboden und Reagenzglaswand geimpft. Ist Entwicklung erfolgt, dann wird die Glaswand unterhalb des Agars flüchtig erhitzt, bis die gelockerte Agarmasse herausgleiten kann. Die zurückbleibenden Teilchen des Pilzrasens wachsen nachher auf der noch mit äußerst dünner Schicht bedeckten Glaswand weiter und sind der mikroskopischen Untersuchung, wozu sich der v. Sehlensche Reagenzglashalter vorteilhaft verwenden läßt, auch bei stärkerer Vergrößerung zugänglich. Bei stärkerer Lichtbrechung und Ansatz von Tautröpfchen wird das Reagenzglas mit folgender lichtbrechender Lösung ausgefüllt: Gelatine 1,0, Spiritus 25,0, Salmiakgeist 25,0, Glyzerin 15,0, dest. Wasser 35,0.

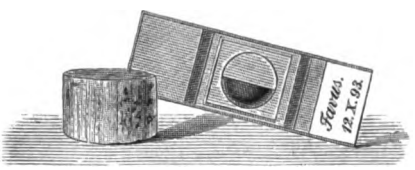
Kultur im durchbohrten Objektträger. Die Gläser sind in der Mitte mit einem kreisförmigen Ausschnitt, einem Loch von ca. 16 mm Dchm. versehen. Nach Sterilisierung wird das Loch auf der einen Seite mit einem mit Vaselin eingefetteten Deckgläschen verschlossen, die entstandene Vertiefung mit einer Mischung von Nährgelatine und -Agar oder Nähragar allein ausgefüllt und nach Erstarrung das Deckglas wieder entfernt. Mit geglühtem Platindraht sticht man nun etwa die Hälfte der Nährbodenscheibe aus und impft auf die freie Kante des stehen gebliebenen Halbmonds. Der Objektträger wird auf einer Seite in den Ausschnitt eines Korkens aufrecht gestellt und in einer feuchten Kammer bei geeigneter Wärme aufbewahrt. Bei der späteren mikroskopischen Untersuchung wird auf der einen Seite wieder ein sterilisiertes Deckgläschen aufgelegt; unten an den Objektträger (Fig. 204) werden zwei Leisten von Glas oder Pappe gesiegelt, damit der Tisch nicht verunreinigt wird.

Ueber die Züchtung von Hautpilzen in der feuchten Kammer s. S. 324 f.

Digitized by Google

Zur Anfertigung mikroskopischer Präparate wird von einer Kolonie der Platte ein Teil entnommen oder die ganze ausgeschnitten und in ein Blockschälchen gelegt, das eine Mischung von 50proz. Alkohol mit einigen Tropfen Ammoniak enthält, vorsichtig zerzupft und Schüppchen davon auf den Objektträger übertragen. Reagenzglaskulturen kann man nach Sicherung der Reinkultur im ganzen mit dem ammoniakhaltigen Spiritus übergießen und dann Partikelchen herausholen. Hierauf gibt man ein kleines Tröpfchen Glyzerin aufs Präparat, legt das Deckglas auf und tropft, falls man das Präparat aufheben will, an jede Ecke mit einem brennenden Kerzchen etwas Wachs oder Paraffin, das mit einem warmem Platindraht längs der Deckglasränder breit ausgestrichen wird; den so entstehenden Rahmen überziehe man mit Asphaltlack. Statt Glyzerin eignet sich auch Natriumsilikat mit Glyzerin zur Einbettung; die Vorschrift ist nach Schürhoff (C. II. 8. 80): Glyzerin 10,0 und Wasser 10,0 werden gemischt zu 80,0 käuflicher Natriumsilikatlösung zugesetzt. Eine Färbung ist in der Regel nicht nötig. Anleitungen dazu finden sich bei Unna C. 11. 40.

Fig. 204.



Will man Schimmelpilze auf eine krankheitserregende Wirkung prüfen, so geschieht dies durch Einspritzung der durch das Plattenverfahren gesicherten Reinkultur, die in körperwarmer physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt ist, in die Ohrvene von Kaninchen. Gegebenenfalls kann der Tod in 4 bis 8 Tagen eintreten. In dem von Schimmelpilzen durchwachsenen Körper findet man bloß Myzel, keine Fruchtbildung, die Artbestimmung kann also nur durch die Kultur erfolgen.

Mucor. Die Kopfschimmel sind an ihren Köpfchen leicht zu erkennen, die — meist schon mit bloßem Auge zu sehen — am Ende der vom Myzel aufsteigenden Hyphe sitzen. Myzel und Fruchtbildungsorgane zusammen werden wie bei allen Pilzen Thallus genannt. Mikroskopisch sieht man am Ende der Hyphe eine Anschwellung, die sogenannte Columella, die bei manchen Arten sehr wenig ausgesprochen ist, und darüber eine Haube sackartig gestülpt; zwischen der Columella und der Kappe befinden sich die Sporen, Konidien, die nach Einreißung der Haube in Schwärmen austreten (s. Taf. XII, Fig. 73). Das ganze Gebilde heißt Sporangium.

Von nicht krankheitserregenden Mukorineen seien erwähnt: Mucor mucedo, Mucor stolonifer; von krankheitserregenden: M. corymbifer, M. rhizopodiformis, M. ramosus.

Aspergillus. Die Kolbenschimmel zeichnen sich durch eigentümliche, flaschenförmige Aufsätze auf dem kolbig angeschwollenen Ende der aus dem Myzel aufsteigenden Hyphe aus. Diese, auch Kegelkeilen ähnlichen Aufsätze heißen Sterigmen; an ihrem äußersten Ende schnüren sich die Sporen, Konidien, ab, die, gewöhnlich noch einzeln oder zu mehreren, auf den Sterigmen sitzend, vielfach aber frei im Gesichtsfeld angetroffen werden. Der ganze

Digitized by Google

keulenförmige Fruchtträger hat die Gestalt eines Weihwedels (Taf. XII, Fig. 74).

Im Myzel dieser Pilze bildet sich eine Dauerform von noch stärkerer Widerstandsfähigkeit als die der Konidien ist, in Gestalt dunkler Gebilde, Perithezien genannt, gehäuseartige Fruchtkörper, die Sporenschläuche, Asken, in sich schließen.

Von nicht krankheitserregenden Arten ist A. glaucus besonders häufig, Krankheitserreger sind: A. fumigatus, A. flavus, A. niger, A. nidulans, A. subfuscus, Eurotium malignum.

Penicillium. Die Pinselschimmel zeichnen sich durch Gliederung (Septierung) ihres Myzels aus, so daß sie auch ohne vorhandene Fruchtbildung erkannt werden können. Wie bei den Aspergillazeen schnüren sich die Sporen am Ende von Sterigmen ab; die Sterigmen sitzen auf stilartigen Auszweigungen, den Basidien auf, zu denen die Hyphen bei diesen Schimmelpilzen auseinandergehen.

Penicillium glaucum ist eine allgemein bekannte, ungemein häufig sich einfindende Art.

Vorkommen und Nachweis von Kleinwesen in- und außerhalb des Körpers nebst Beschreibung der häufigeren Arten.

Nachweis von Krankheitserregern in der Leiche.

Je eher nach dem Tode die Sektion vorgenommen wird, desto besser ist es für den einwandfreien Ausfall der bakteriologischen Untersuchung. Denn bald beginnen die Bakterien namentlich vom Darm und von den Lungen aus in die Gewebe einzuwandern, in der warmen Jahreszeit selbstverständlich rascher als in der kühlen. A. Hauser hat in dahin zielenden Untersuchungen am häufigsten Koliarten gefunden; ziemlich oft kamen Streptokokken zur Beobachtung (C. r. 23. 418). Diese sind aber nicht selten bereits während der Krankheit in das Blut gelangt, denn H. Gradwohl hat dieselben Arten in Leichen nachweisen können, die in weniger als 2 Stunden nach dem Tode obduziert worden waren (AP. 04. 767). F. Chvostek hatte schon früher (C. r. 23. 336) gefordert, daß durch histologische Untersuchung und Feststellung der Zahl, Lage und Verteilung der Bakterien nachgewiesen werden solle, daß sie sich schon während des Lebens im Körper angesiedelt und dort gewirkt hatten. Vgl. M. Otten, Virch. Arch. 184. 284.

Mitunter kommen während des Lebens oder auch erst in der Agonie anaerobe „Gasbazillen“ in den Kreislauf, die nach dem Tode eine auffallende Veränderung der Gewebe durch Bildung von Gas erzeugen und Schaumbildung in inneren, namentlich großen, saftreichen Organen, wie in der Leber (von P. Ernst als Schaumleber und Schaumorgane bezeichnet), in selteneren Fällen auch Hautemphysem hervorrufen; sie stammen entweder aus Erde oder Bodenstaub, mit denen eine Wunde verunreinigt wurde, und können dann bereits während des Lebens zur Entstehung einer Gasphlegmone Veranlassung gegeben haben, oder sie gelangen mit Magen- und Darminhalt durch eine Ver-

Digitized by Google

letzung in die Bauchhöhle, oder sie werden durch Aspiration von Mageninhalt, z. B. beim Erstickungstod, in den Kreislauf eingepreßt, wie in einem Falle von K. Buday gezeigt wurde (C. 24. 369). Zur Isolierung des Gasbazillus soll man etwas von dem das Bakteriengemisch enthaltenden Gewebsmaterial auf Meerschweinchen verimpfen (s. E. Fraenkel, ZfH. 40. 73).

In den meisten Fällen braucht man bei Untersuchungen an Leichen, die nicht allzulange gelegen haben, wegen einer Störung durch Fäulniserreger nicht ängstlich zu sein, namentlich dann nicht, wenn es sich um die Auffindung eines bereits bekannten unschwer zu erkennenden Erregers handelt. Vielmehr wird man dafür zu sorgen haben, daß bei der Anlegung der Obduktionsschnitte nicht Bakterien an die später zu untersuchenden Organe verschmiert werden, wozu bei der üblichen Vornahme der Leichenöffnung vielfach Gelegenheit gegeben ist, wenn man sie nicht mit Aufmerksamkeit zu vermeiden sucht; denn die nicht keimfrei gemachten wenigen Messer und Scheren durchschneiden erst die Haut und dann die inneren Organe, oft nachdem sie gleich zu Anfang mit Darminhalt oder mit Eiterherden in Berührung gekommen sind, und alle Organe werden mit denselben, zwischendurch höchstens mangelhaft gereinigten Händen angefaßt.

Nun läßt sich freilich eine streng aseptische Sektionsmethode in der Praxis nicht durchführen, aber ein bakteriologisch geschulter Arzt wird weder mit den bloßen Händen an alle Organe, insbesondere an eitrige oder sichtlich infizierte Stellen schon zum Schutze seiner eigenen Person und seiner Umgebung ohne Notwendigkeit hingreifen, noch wird er seine Messer und Scheren wahllos verwenden und die einzelnen Organe nicht unnötig besudeln. Wenn wir auch die Obduktion einer menschlichen Leiche oder eines größeren Tieres nicht mit derselben Peinlichkeit vornehmen können, wie im bakteriologischen Laboratorium die Sektion von kleineren Versuchstieren (s. S. 172 ff.), lassen sich doch auch dort einwandfreie Ergebnisse erzielen. In Fällen, wo die Obduktion wegen äußerer Hindernisse oder des Vorhandenseins einer gemeingefährlichen Krankheit (Pest) nicht erlaubt oder nicht geraten ist, kann man für die bakteriologische Untersuchung immerhin noch genügendes Material gewinnen, wenn man entweder mit einer kräftigen (sterilisierten) Spritze die Milz, Leber oder Lunge punktiert oder, wie es in der „Anweisung zur Bekämpfung der Pest“ vorgeschrieben ist, wenn man aus der Leiche holt:

1. eine geschwollene Lymphdrüse;

2. ein wallnußgroßes Stück der durch einen Schnitt am linken Rippenbogen zugänglich gemachten Milz;

3. 10 bis 20 ccm Blut, das zweckmäßig einer Vena jugularis entnommen wird (Methode s. S. 99);

4. aus Lungenteilen ein oder einige wallnußgroße Stücke.

Leider steht dem Obduzierenden meistens nicht die nötige bakteriologische Ausrüstung zu Gebote, und doch ist es unter Umständen, nicht zum mindesten bei manchen gerichtlichen Leichenöffnungen unbedingt erforderlich, auch durch bakteriologische Untersuchungen Aufklärung über die Krankheits- und Todesursache zu gewinnen. Die Organe wie zu einer gerichtlich-chemischen Untersuchung einfach in

Digitized by Google

verschiedene Gläser zu verpacken und an ein Laboratorium zu senden, ist ganz unzweckmäßig, weil sie dort in einem so gut wie unbrauchbaren Zustande von Fäulniserregern durchsetzt eintreffen.

Für solche Fälle ist von mir ein Verfahren angegeben worden, das über viele Schwierigkeiten und Bedenken hinweghilft, und nichts weiter voraussetzt, als daß die obduzierenden Aerzte wenigstens über die grundlegenden Kenntnisse in Bakteriologie und Aseptik verfügen. Es besteht darin, daß man sterile Seidenfäden mit den Sekreten oder Organsäften tränkt und Ausstriche auf Objektträger oder Deckgläser zur färberischen Untersuchung anlegt. Dazu braucht man einige Pinzetten und Skalpelle mehr, die entweder kurz vorher in der Flamme erhitzt oder in einem eigenen aseptischen Besteck sterilisiert vorrätig gehalten werden. Ein solches ist nach Art der Fig. 179, S. 177 angefertigt bei F. & M. Lautenschläger zu haben; es befinden sich in ihm noch eine Spirituslampe zum Abflammen der Instrumente, Deckgläser und in einer Büchse sterilisierte Objektträger, ferner, was das wichtigste ist, mehrere kurze sterile Reagenzröhrchen aus widerstandsfähigem Glase, auf deren Boden Chlorcalcium liegt und die mit Wattestopfen und darüber mit einer Gummikappe verschlossen sind*). Das pulverige Chlorcalcium ist durch einen kleinen Wattebausch festgehalten; auf diesem liegen etwa 10 sterile Seidenfäden von 7 bis 10 mm Länge aus Turner Seide Nr. 4 oder 5.

Zum Gebrauch nimmt man Gummikappe und Wattestopfen ab, holt erst einen Seidenfaden mit einer geglühten und wieder erkalteten, oder einer schon vorher im Trockenschrank sterilisierten und nur ganz kurz abgeflammten Pinzette heraus und taucht ihn ins Blut oder in Eiter, Sekrete, Darminhalt oder in Organsaft, nachdem man zunächst ins Organ mit einem sterilen Messer eingeschnitten und mit einem zweiten sterilen Messer senkrecht dazu einen anderen Schnitt angelegt, oder das Gewebe mit zwei geglühten Pinzetten auseinandergerissen hat; es darf nur nicht von außen her Saft ins Innere, in die Tiefe des Schnittes oder Risses eintreten.

Für jedes Objekt und Organ muß man natürlich eine besondere Serie von einigen Fäden aus je einem anderen Chlorcalciumröhrchen verwenden. Nachdem die getränkten Fäden auf der Glaswand innen niedergelegt sind, setzt man den Wattestopfen wieder auf (wenn er beschmutzt worden sein sollte, kann er wegbleiben) und zieht alsbald die Gummikappe über. Danach trocknen die getränkten Fäden bald.

Wie ich nachgewiesen habe (ZfH. 50. 123), halten die meisten Krankheitserreger eine bis dahin ungeahnt lange Zeit die Trocknung aus. Andere freilich gehen bald zu Grunde, z. B. Choleravibrionen, Gonokokken, Meningokokken und einige andere; doch wird man sich dadurch nicht abhalten lassen, in jedem Falle die Seidenfäden zu verwenden; die Einsendung von Leichenteilen in der bisherigen Weise ist ja dadurch nicht aufgehoben.

Außerdem sollen von jedem Organ und Sekret, das in Betracht kommt, dünne Ausstriche auf mindestens je zwei Objektträger oder

*) Wenn die Gläschen verschickt werden sollen und in der Holzhülse kein Platz für die Gummikappe mehr ist, kann man den Wattestopfen durch einen sterilisierten Korkstopfen ersetzen, der fest sitzen muß; zur Sicherheit taucht man ihn samt dem obersten Ende des Röhrchens in verflüssigtes Paraffin.

Digitized by Google

Deckgläser gemacht werden, damit auch für die mikroskopische Untersuchung richtig bereitetes Material ins Laboratorium gelangt; zwei deshalb, um verschiedene Färbungen anstellen zu können.

Bei nicht keimfrei entnommenen Organen oder Organteilen muß immerhin versucht werden, was einwandfrei herauszubringen ist. Zunächst muß man die außen haftenden Keime wegzubringen suchen, etwa durch Abwaschung mit 5proz. Phenol- oder durch 5 Minuten lange Einlegung in 1proz. Sublimatlösung, worauf man das Organ auf reines Fließpapier legt und wartet, bis oberflächliche Trocknung erfolgt ist (F. Loeffler, KGA. Mittlg. 2. 451); oder man taucht das Organ für einige Zeit in Spiritus und zündet diesen nach der Herausnahme an. Daß der Spiritus, selbst bei nahezu 24stündiger Einwirkung auf große Organstücke nicht schadet, habe ich gelegentlich der Uebersendung einiger derart eingelegter Proben erfahren; der Alkohol war etwa 1 cm tief eingedrungen, im tieferen Innern waren die Streptokokken ziemlich unbehelligt, von fremden Eindringlingen lebend; es handelte sich um einen Fall von Sepsis.

Wenn die Flamme verlöscht ist, wird das Stück mit sterilen Messern angeschnitten; senkrecht auf den ersten wird mit einem anderen Messer ein zweiter Schnitt angelegt, der nirgends bis an die Kapsel dringen darf; allenfalls wird noch ein dritter Schnitt senkrecht zum zweiten gemacht (G. Gaffky, KGA. Mittlg. 2. 386).

Statt zu schneiden kann man beim letzten Male auch das Stück mit zwei Pinzetten fassen und einreißen. Dann erst wird mit steriler Pinzette, Hakenpinzette, oder Platinnadel u. dergl. die Probe zur Aussaat und zur mikroskopischen Untersuchung entnommen, allenfalls werden vorher noch einige Seidenfädchen in den in der Tiefe vordringenden Organsaft getaucht. In jedem Falle muß von Anfang an die äußere Fläche ganz trocken gewesen sein, damit nicht etwa Tröpfchen vom Desinfektionsmittel oder von bakterienhaltigem Saft die Schnittfläche verunreinigen.

Aber selbst wenn die Stückchen sehr klein sind, darf man von einer Untersuchung nicht abstehen. Man wäscht sie in mehreren, bis zu zehn Röhrchen mit sterilem Wasser oder Bouillon ab, macht Plattenaussaaten und verimpft schließlich das Teilchen noch auf ein Tier, dessen Wahl von dem vermuteten Krankheitserreger abhängig ist.

Bei Tierkrankheiten ist man besser dran, weil hier vom Tierversuch noch viel eher ein positiver Ausfall zu erwarten ist. Die Wahl ist, wenn nicht pekuniäre oder andere Schwierigkeiten entgegenstehen, von selbst gegeben; außerdem sind die meisten Tierkrankheiten auf unsere gebräuchlichen Laboratoriumstiere übertragbar.

Nachweis von Kleinwesen, vornehmlich von Krankheitserregern in einzelnen Körperteilen und ihren Ausscheidungsstoffen.

Haut.

Die Färbung der Mikroorganismen in Haut und Haaren ist schwieriger als in anderen Körpergeweben, da das Horngewebe sich mitfärbt und die Farbe ziemlich hartnäckig festhält. Man muß deshalb Differenzierungsmittel anwenden.

Digitized by Google

Unna legt zur Gewinnung des Untersuchungsmaterials ein Stückchen Zinkpflastermull oder Heftpflaster auf und drückt es einige Minuten mit der warmen Hand an. Beim Abheben des Pflasters kleben dann gewöhnlich alle sekundären Krankheitsprodukte daran. In einem Schälchen mit Benzin erfolgt die Ablösung der Schuppen, worauf die etwa noch anhängenden Zinkoxydteilchen in salzsaurem Alkohol entfernt werden. Eine folgende Uebertragung in Wasser läßt die Schuppen wieder aufquellen und verleiht ihnen ihre natürliche Färbbarkeit.

In der Regel wird man sich jedoch mit der einfachen Abhebung der Schuppen oder Ausziehung der Haare mittels der Pinzette begnügen.

Haare müssen vorher entfettet werden; dies wird durch mehrstündige Einlegung in eine Mischung gleicher Teile Aether und Alkohol erreicht. Nägel werden entweder abgefeilt oder in dünne Rasiermesserschnitte zerlegt, die man färbt.

Epidermisschuppen, Scutula u. dergl. werden zur Mikroskopierung in 40proz. Kaliumkarbonatlösung oder 15proz. Natronlauge zerzupft und über der Flamme auf dem Objektträger leicht erwärmt, mit Deckglas bedeckt und nach Zusatz von Glyzerin mit stärkerem Trockensystem untersucht.

Die Vorbereitung der Schuppen mit Natronlauge genügt manchmal nicht, um sehr spärlich vorhandene Pilzelemente zu erkennen. Folgende von Plaut etwas modifizierte Methode von Bizzozero führt fast stets zum Ziel (Hdb. d. path. Mikr. 1. 607):

Schuppen werden mit Eisessig auf den Objektträger gebracht und mit einem anderen breit gequetscht. Dann folgt Alkoholanwendung unter Erwärmung, bis Alkohol und Essigsäure verdunstet sind und die Schüppchen noch etwas feucht auf der trockenen Umgebung liegen. Färbung mit Ziehlscher Lösung 3 Minuten lang; vorsichtig mit Filtrierpapier abtupfen; Jodjodkaliumlösung (1 : 2 : 300) 1 Minute; Anilinöl, oft gewechselt, bis keine Farbwölkchen mehr abgehen. In Anilinöl wird nach Auflegen des Deckgläschens untersucht. Die Pilze erscheinen tief dunkelrot auf blaßrosa gefärbtem Gewebe.

A. Kraus fand (C. 37. 153) zur raschen differenzierenden Darstellung der Mikroorganismen die Methylenazurlösung (s. S. 42) vorzüglich geeignet, in der das Material 5 Minuten liegen bleiben soll, Haare nach Entfettung in Aetheralkohol für 10 Minuten; Wasserspülung; Differenzierung in 96proz. Alkohol, bis die Schuppen einen grünlichen Schimmer zeigen; Xylol; Balsam.

Bei chronischem Ekzem, das im Gegensatz zum akuten als eine selbständige Krankheit angesehen wird, fand F. Veiel in den nässenden Grübchen und in der serösen oder serös-eitrigen Masse unter den Krusten in den Frühstadien der Krankheit ausschließlich gelbe pyogene Staphylokokken, deren Identität mit dem Staph. pyog. aur. durch Hämolysin- und Agglutinationsversuche festgestellt wurde; es gelang aber niemals, mit den Staphylokokken ein echtes chronisches Ekzem zu erzeugen (MmW. 04. 13).

Bei Akne und in Komedonen kommen verschiedene Mikroorganismen vor, weiße, nicht pyogene Staphylokokken, verschiedene Stäbchen, auch sporenbildende Bazillen, ohne daß man eine dieser Arten mit der Erkrankung in ursächliche Beziehung hat bringen können (J. Söllner, MmW. 04. 1680).

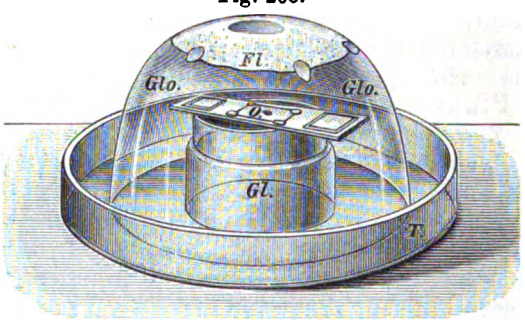
Digitized by Google

Aus Pemphigus vegetans züchtete L. Wälsch Bakterien aus der Gruppe der Pseudodiphtheriebazillen, die pathogen für Kaninchen und Meerschweinchen waren (r. C. 32. 43). Eine ursächliche Bedeutung ist ihnen wohl nicht beizumessen, ebensowenig wie den Kokken, die von verschiedenen Untersuchern bei anderen Pemphiguserkrankungen gefunden worden sind.

Die Züchtung der Hautpilze. Um isolierte, womöglich von einem einzelnen Keim ausgehende Kolonien zu erhalten, müssen die vorhandenen Konidien mechanisch getrennt werden. Bröckchen von verschiedenen Stellen eines typischen Scutulums oder Schuppen, die mit dem scharfen Löffel von der vorher flüchtig mit Aether geriebenen Haut abgekratzt worden sind, werden nach F. Král mit frisch geglühter Kieselsäure in einem sterilen Porzellanschälchen verrieben.

Die Verreibung soll nicht zu energisch, sondern leise und dafür lieber etwas länger gemacht werden, um die Pilze nicht zu schädigen

Fig. 205.



(Wälsch, Arch. f. Derm. 37. 6). Davon werden eine oder zwei Oesen in verflüssigten, im Wasserbade bei 42° gehaltenen Nähragar übertragen, rasch weitere 2 oder 3 Verdünnungen angelegt und sofort zu Platten verarbeitet. Haarpartikelchen werden ebenso behandelt (Arch. f. Derm. 91. I. 77).

Findet man nach der Züchtung bei 37° Pilzkolonien, dann kann man sie nach 48 Stunden in ein Erlenmeyersches Kölbchen abimpfen, das Agar mit 4% Zucker und 2% Pepton enthält; dieses kommt ohne Gummibedeckung in den Brütofen.

Um über die Anordnung der fruktifizierenden Teile zum vegetativen Körper Aufschluß zu erhalten, müssen Agarreinkulturen in Schnitte zerlegt werden. Der beste Einblick in Wachstum und Anordnung der Elemente ist in flachen Glasschalen gewährt, die mit Nährbouillon beschickt sind, oder auf Objektträgerkulturen von Hautschüppchen, Haaren u. s. w.

Die Objektträgerkulturen nach Plaut sind besonders geeignet, weil der feste Nährboden der Haut den Hautpilzen am meisten zusagt (C. 31. 213). Es ist möglichst frisches Material zu verwenden. 3 bis 4 Haare oder ebensoviele Schüppchen werden ohne weitere Vorbehandlung direkt auf sterilisierte Objektträger übertragen und mit einem anderen sterilisierten Objektträger recht fest gedrückt; bleibt

Digitized by Google

dabei an diesem Material hängen, wird auch er zur Züchtungskammer umgewandelt. Dies geschieht durch Auflegung eines abgeflammten Deckgläschens, das mit 4 Wachströpfchen (eines an jeder Ecke) befestigt wird. Die Kultur darf unter keinen Umständen benäßt werden. Man legt den oder die Objektträger O auf ein Glasschälchen Gl (Fig. 205), stellt es in einen Teller T und deckt eine flache Glocke von 7 cm Höhe und 12 cm Durchmesser darüber; schließlich wird Wasser in den Teller gegeben. Die Innenseite der Glocke muß oben mit Fließpapier Fl belegt werden, das durch Wachströpfchen festgehalten ist und in der Mitte ein Loch zur Beobachtung der Kultur besitzt. Beim Oeffnen der Glocke achte man genau darauf, daß kein Tropfen Wasser an den Rand des Deckgläschens fällt, sonst ist die Kultur verloren.

Wenn tüchtige Pilzentwicklung erfolgt ist, schneidet man am Rande der Schuppe ein Stückchen los und überträgt es auf Maltose- oder Traubenzucker- (4 %), Pepton- (2 %) Agar, wo dann eine üppige Pilzvegetation ungestört von Bakterien auch bei Brüttemperatur die Regel ist. Will man vor jeder Verunreinigung sicher sein, dann schickt man das abgeschnittene Stückchen nach Zerreibung mit Kieselsäure (nach F. Král) durch Platten.

Man züchte, wenn nicht besondere Umstände zu schnellerem Ergebnis drängen, bei etwa 20 °; bei höherer Temperatur ist es schwer, die Objekte vor Benässung zu schützen. Es soll jeden Tag mit schwacher Vergrößerung untersucht werden; Myzelentwicklung in den ersten 2 bis 3 Tagen ist unbedingt als durch gewöhnliche Schimmelpilze hervorgerufen zu betrachten. Die Züchtung gelingt wenigstens bei Trichophytie ausnahmslos und läßt die Keime von der Spore bis zur Ektosporenbildung lückenlos verfolgen. Die verschiedenen Trichophytien und ihre Erreger sind am eingehendsten von R. Sabouraud (r. C. 34. 714) behandelt.

Für Favus ist die Anwendung höherer Temperatur (35 °) nötig. Die Deckgläschen werden dann dadurch vor Kondenswasser geschützt, daß über ihnen eine Brücke aus feuchtem Fließpapier befestigt wird; dies geschieht mit Wachs auf den freien Enden am Objektträger; das Papier wird jeden Morgen neu befeuchtet. Nach 24 Stunden ist Myzel- und nach 48 Stunden typische Ektosporenbildung da.

Die Ueberimpfung der Reinkulturen der Pilze zur Erbringung des letzten Beweises ihrer krankheitserregenden Eigenschaft kann auf die gebräuchlichen Tiere geschehen, indem ihnen an einer desinfizierten Stelle die Kultur in die Oberhaut eingerieben und ein passender Schutzverband darüber gedeckt wird. Mäusefavus kann durch Verfütterung übertragen werden, worauf die Erkrankung zuerst an der Schnauze einsetzt (Unna). Auch bei Menschen sind viele Versuche angestellt worden durch Einreibung der sporenhaltigen Reinkulturen auf die mit Seifenwasser und Alkohol gewaschene ungereizte und ungeritzte Haut des linken Vorderarms oder des Oberschenkels an seiner inneren Fläche.

Lepra. Die Leprabazillen finden sich nach A. Hansen in kolossalen Mengen in den leprösen Knoten der Haut; in der Epidermis nur äußerst selten, jedenfalls liegen sie nicht in Epidermiszellen. Auch

Digitized by Google

alle übrigen Organe können Sitz der leprösen Affektionen sein, nur in den Hoden ist der einzige Ort, wo sie regelmäßig in Epithelien vorkommen. Dagegen sind in den weiblichen Geschlechtsorganen bis jetzt keine Leprabazillen beobachtet worden. Sie finden sich überall in den Endothelien der Blutgefäße, im kreisenden Blute meistens in weiße Blutkörperchen eingeschlossen. In den peripheren Nerven sind die Bazillen besonders reichlich bei knotigen Fällen. Ihre Ausbreitung erfolgt oft beim Husten, Niesen und beim forcierten, nicht beim gewöhnlichen Sprechen. In der Nase sitzen sie häufig, nach H. P. Lie in 35,2 % der Fälle. Unter Umständen läßt sich durch die Untersuchung des Nasensekrets allein die Diagnose stellen, aber daraus ist nicht zu schließen, daß die Lepra immer als Nasenkrankheit anfängt.

Die Leprabazillen sind bereits 1872 von Armauer Hansen beschrieben worden, der färberische Nachweis gelang fast gleichzeitig A. Neißer 1879 und A. Hansen 1880. Die unbeweglichen Stäbchen liegen im Innern von Zellen entweder einzeln oder meistens zu mehreren zusammen in zigarrenbundähnlichen Paketen. Die Ansammlungen von Leprabazillen und Bazillenkörnern heißen Globi, von Hansen ursprünglich braune Körperchen genannt, weil sie im frischen Zustande braun sind; da sie nicht in jungen Knoten vorkommen und mit dem Alter der Knoten häufiger werden, betrachtet sie Hansen als Untergangsformen der Bazillen.

Die Leprabazillen werden ähnlich wie die Tuberkelbazillen gefärbt; sie nehmen die Farbe leichter an und geben sie, wie ich bei der färberischen Behandlung einiger längere Zeit angetrocknet gewesener Präparate aus Nasensekret bemerkte, bei der Einwirkung von Säure leichter ab. Für die Anfertigung von Präparaten, insbesondere solcher, die aufbewahrt werden sollen, empfiehlt es sich deshalb, die schädigende Säure wegzulassen und bloß mit Spiritus zu spülen. Immerhin gehören die Stäbchen zu den säure- und alkobolfesten Bazillen. Die von A. Neißer zuerst gesehenen hellen Lücken in den gefärbten Bazillen deutet Hansen als Anzeichen des Zerfalls, zumal da sie am häufigsten in den Bazillen erweichender Knoten vorkommen. Kulturen und Tierversuche haben bis jetzt zu keinem positiven Ergebnis geführt.

Für die Unterscheidung von Lepra- und Tuberkelbazillen insbesondere bei der nämlichen Person erachtet Hansen die Untersuchung auf Riesenzellen und Nekrosen in ihnen für ausschlaggebend, weil er sie bloß bei Tuberkulose, niemals bei Lepra hat finden können (nach Arm. Hansen, Hdb. d. path. Mikr. 2. 178 bis 190).

Tuberkulose der Haut wird häufig in Gestalt des sogenannten Lupus beobachtet. Die „Leichentuberkeln“ oder „Leichenwarzen“ sind nicht immer tuberkulöser Natur (P. Baumgarten, J. 1. 80 Anm.; Pollosson, C. 5. 135); doch wurden in solchen Gebilden auch zweifellose Tuberkelbazillen nachgewiesen (Baumgarten [J. 1. 80] beobachtete Tuberkeln in ihnen schon im Jahre 1874). E. Finger, der in ihnen Tuberkelbazillen nebst Streptokokken fand, unterscheidet die Leichenwarze vom Lupus — zwei sonst frappant ähnliche Affektionen — durch den Sitz der miliaren Tuberkel, die dort ausschließlich in den Cutis, hier auch im subkutanen Gewebe vorhanden sind (DmW. 88. 85).

Digitized by Google

Die Diagnose wird durch den Nachweis der Tuberkelbazillen gesichert. Leider sind sie oft so vereinzelt zugegen, daß ein negativer Ausfall der mikroskopischen Untersuchung durchaus nicht auf die Abwesenheit der Bazillen schließen läßt. Man muß auch Meerschweinchen impfen.

Die Färbung von Saftausstrichen u. dergl., sowie von Schnitten aus herausgenommenen Gewebestückchen erfolgt in üblicher Weise; nur sei man vorsichtig wegen Verwechslung mit Smegmabazillen.

Die Züchtung von Tuberkelbazillen aus Lupusstückchen ist wegen der vorhandenen anderen Bakterien hier besonders schwierig, aber von R. Koch schon bei seinen ersten epochemachenden Untersuchungen über die Aetiologie der Tuberkulose mit Erfolg ausgeführt worden (KGA. Mittlg. 2. 1).

Beim geimpften Tier ist nicht bloß durch Untersuchung der der Impfstelle benachbarten Drüsen, die längstens nach 6 Wochen als erkrankt zu erkennen sind, und durch den Obduktionsbefund des in der 6. bis 7. Woche getöteten Tieres herauszubringen, ob Tuberkulose vorgelegen hat, sondern es ist bejahendenfalls durch Anlegung von Kulturen festzustellen, ob der betreffende Tb.-Stamm dem Typus humanus oder bovinus zugehört.

Rotzgeschwüre beim Menschen erfordern nicht selten die Unterscheidung gegenüber Syphilis und bösartiger Form der Hauttuberkulose. In den fast nur an den Gliedmaßen in der Haut wie in der Muskulatur vorkommenden Abszessen, sowie in dem gummiähnlichen oder ölartigen Eiter (M. Joseph, DmW. 93. 425) aus den fressenden Geschwüren der Nase, des Gaumens und der Lippen sind die Rotzbazillen vorhanden; durch die Färbung sind sie nicht sicher von anderen zu unterscheiden, es muß in jedem Falle die Kultur und der Tierversuch vorgenommen werden; bei Tieren kann man gleichzeitig eine Malleineinspritzung machen.

Das geeignete Laboratoriumsversuchstier ist das männliche Meerschweinchen; man muß in jedem verdächtigen Falle einem oder einigen Tieren Eiter in etwas Bouillon aufgeschwemmt, oder Gewebsstückchen in die Bauchhöhle einbringen; stammt das verdächtige Sekret aus der Nase oder ist es sonst mit anderen Bakterien verunreinigt, dann nehme man wenigstens drei Tiere zur intraperitonealen Einspritzung. Diese von J. Straus 1889 eingeführte Methode hat sich sehr bewährt, denn längstens am 3. oder 4. Tage, oft schon früher, selbst während des ersten Tages entstehen Rötung und Schwellung des Hodensacks und einer oder beide Hoden büßen ihre freie Beweglichkeit in der Bauchhöhle ein. Der Erkrankung der Scheidenhaut folgt eine solche der Hoden selbst, weiterhin treten Abszesse am Bauchfell, in den Muskeln und unter der Haut auf.

Bei der Anstellung des Strausschen Versuchs erinnere man sich, daß Kutscher (ZfH. 21. 156) einmal im Nasensekret eines rotzverdächtigen Pferdes außer den Rotzbazillen ein ihnen sehr ähnliches Stäbchen ermittelt hat, das ebenfalls die Eigentümlichkeit besaß, Hodenschwellung manchmal mit Knötchen in der Tunica vaginalis propria hervorzurufen. In der Kultur unterschied es sich von den Rotzbazillen durch einen nur in den ersten Generationen vorhandenen orangegelben

Digitized by Google

Farbstoff, den es auf Serum bildete, sowie durch die Bildung eines rein weißen, trockenen Belags auf Kartoffeln.

Die Meerschweinchen erliegen der Rotzimpfung durchschnittlich in 4 Wochen, Feldmäuse in 3 bis 6 Tagen, Katzen, die nie spontan erkranken sollen, nach einer Inkubationszeit von mehr als drei, in spätestens 22 Tagen. Passagerotz fand G. Foth für Meerschweinchen in 7 Tagen, für Feldmäuse in 48 bis 60 Stunden, für Katzen in 5 bis 6 Tagen tödlich (r. HR. 7. 918). Von Mäusen ist nach Loeffler die Feldmaus (Arvicola arvalis), sowie die Schermaus (Arv. amphibius) empfänglich, von der Gattung Mus sah Th. Kitt (C. 2. 243) die Wühl- oder Springmaus (Mus sylvaticus) in 8 bis 33 Tagen eingehen. Hausmäuse gelten als refraktär, doch sagt G. S. Shattock, daß die weißen Mäuse, wenn auch spät, etwa in 2 bis 3 Wochen der Infektion erliegen (C. 25. 323). Kaninchen eignen sich für gewöhnlich nicht zur experimentellen Infektion. Hunde sind nach J. Straus wenig empfänglich. Das Ziesel (Spermophilus citillus s. guttatus), ein zahmer, im östlichen Europa heimischer Nager, erliegt nach D. Kranzfeld (C. 2. 276) binnen 4 bis 10 Tagen. Von größeren Tieren ist bekanntlich das Pferd am empfänglichsten. Schafe konnte M. F. Peuchu durch direkte kutane Impfung und von ihnen ab Esel infizieren; Rinder dagegen sind, wie die Nachprüfungen früherer gegenteiliger Angaben durch M. Prettner ergaben, refraktär (C. 30. 80), auch Schweine sind so gut wie unempfänglich.

Bei Menschen, die mit Tieren zu tun hatten, und nicht zum mindesten bei Laboratoriumsarbeitern sind wiederholt akute und chronische Rotzfälle oft mit tödlichem Ausgang vorgekommen: darum ist allen, die mit Rotzkulturen und mit infizierten Tieren zu tun haben, ganz besondere Vorsicht anzuraten; als sehr gefährlich sind Tiere mit Geschwüren anzusehen. Nach Reichsverordnung vom 4. Mai 1904 dürfen Arbeiten mit Erregern des Rotzes (und der Cholera, ebenso wie mit denen der Pest) nur von behördlich dazu ermächtigten Personen und nur in bestimmten Räumen vorgenommen werden (s. S. 129 f.).

Die **Rotzbazillen** sind schlanke Stäbchen, ohne Eigenbewegung, aber lebhaft molekular beweglich, nach Gram nicht färbbar. Im Innern sieht man nach der Färbung vielfach Lücken, die nicht mit Sporen verwechselt werden dürfen.

Unter gewissen Bedingungen sind Verästelungen zuerst von E. Levy gesehen und von H. Marx beschrieben worden, außerdem Keulen-, Hantel-, Flaschen- und sonstige pleomorphe Entwicklungsformen von H. Conradi (ZfH. 33. 161) und B. Galli-Valerio (C. 28. 352), ferner hat G. Mayer im Meerschweinchenkörper Drusen-, Keulen- und Zweigbildung beobachtet, wenn bei den Tieren eine perakute, ausgebreitete Erkrankung, der sie in 18 bis 42 Stunden erlagen, hervorgerufen worden war; diese wurde dadurch zu stande gebracht, daß 0,5 ccm Aufschwemmung einer Agarkultur in Bouillon mit 5 ccm auf 38° erwärmter, steriler Butter verrieben, in die Bauchhöhle eingespritzt wurde (C. 28. 673). Derartige Befunde gaben Anlaß, dem Rotzbazillus seine Stellung bei den Streptotricheen anzuweisen.

Die Färbung gelingt in Ausstrichpräparaten ohne weiteres mit den gebräuchlichen Farben, als geeignetste Färbung gab F. Loeffler, der Entdecker des Bac. mallei (KGA. Arb. 1. 141), folgende an: Man läßt die Deckgläschen 5 Minuten auf alkalischer Methylenblaulösung schwimmen, taucht sie dann in eine 1proz. Essigsäure, der man durch Zusatz von Tropäolin OO in wäßriger Lösung eine etwa rheinweingelbe Farbe gegeben hat, und wäscht schnell mit destilliertem Wasser nach. Der Zusatz von Tropäolin OO hat die Wirkung, daß das gefärbte Zellplasma ganz und die Kerne etwas entfärbt werden, während die Bazillen ihre Farbe bewahren.

Die Färbung in Schnitten hat viele Schwierigkeiten bereitet und ist viel bearbeitet worden. Nicolle will mit Tanninbehandlung befriedigende Ergebnisse erzielt haben (AP. 92. 783): Färbung mit alkalischer oder Karbolmethylenblaulösung 1 bis 3 Minuten mit oder

Digitized by Google

ohne folgende, einige Sekunden lange Spülung mit schwach essigsaurem Wasser, gründliche Wasserspülung; 10proz. Tanninlösung; Wasserspülung; Xylol; Balsam. Unna hat behufs Erzielung einer Doppelfärbung die 10 Minuten mit Methylenblau gefärbten und abgespülten Schnitte mit einer Mischung von konzentrierter wäßriger Tannin- und 1proz. Säurefuchsinlösung zu gleichen Teilen 15 Minuten lang behandelt (Monatshefte f. pr. Derm. 16. 109). Weitere Methoden siehe S. 54.

Zur Züchtung verwendet man Agar oder Bouillon mit 4,5 % Glyzerin; auf Glyzeringelatine wachsen zwar die Rotzbazillen unter Erweichung und trichterförmiger Einziehung des Nährbodens, aber zu langsam, weil ihnen Zimmerwärme zu niedrig ist. Die Reaktion soll amphoter oder schwach sauer sein (G. Foth). Auf Kartoffeln entsteht ein Rasen von anfangs bernsteingelbem oder honigartigem, später braunrotem Aussehen, ein Merkmal, das als bezeichnend gelten kann; doch ist die Farbe nicht auf allen Kartoffelsorten gleich.

Der Rotzbazillus soll auf glyzerinhaltigen Nährböden seine Virulenz leichter einbüßen als auf Pferde- oder Hammelserum, das Loeffler zuerst zur Züchtung nahm. Vollkommen avirulent gewordene Kulturen aber sind nach F. K. Kleine nicht so häufig, als man oft angenommen hat. Echte Rotzbazillen, selbst jahrelang fortgezüchtete, fand er noch in Dosen von $^1/_{1000}$ bis ein Millionstel Oese tödlich, wenn sie männlichen Meerschweinchen in die Bauchhöhle eingeführt wurden, und er verlangt deshalb, daß jede Kultur, die von dem typischen, von Loeffler gegebenen Bilde abweicht, auf ihre Identität durch ein hochwertiges Serum geprüft werde, nachdem man sich über ihre Reinheit Gewißheit verschafft hat.

Die Serumdiagnose a) zur Identifizierung einer Kultur nach Kleine: Eine gut gewachsene abgetötete Kultur wird in die Vena jugularis von Ziegen oder Eseln gespritzt, nach 8 Tagen die Einspritzung wiederholt und nach weiteren 8 bis 10 Tagen Blut entnommen; ein solches Serum agglutinierte einmal in der Verdünnung 1 : 3000 und klärte die Testflüssigkeit bei 1 : 500, ein anderes agglutinierte bei 1 : 20000 und klärte bei 1 : 5000.

3 bis 4 Agarkulturen werden bei 60° abgetötet, mit je 2 ccm Phenolkochsalzlösung (0,5 % Phenol und 0,85 % Kochsalz) übergossen, die Rasen abgekratzt und die erhaltene Aufschwemmung mit je 40 bis 50 ccm Phenolkochsalzlösung übergossen, so daß die Flüssigkeit im Meßzylinder einen schwach milchigen Farbenton hat; zur Entfernung gröberer Teilchen wird rasch durch ein dünnes Faltenfilter filtriert.

Diese Testflüssigkeit wird in Reagenzgläsern mit einem stark agglutinierenden Serum versetzt, das mit Bouillon auf 1 : 10, allenfalls 1 : 100 verdünnt ist; in jedem Röhrchen sollen nicht mehr als 3 ccm sein; man setzt z. B. an:

0,2 ccm	Serum	1 : 10 +	1 ccm	Testflüssigkeit	= 1 : 50
0,1 „	„		„	„	= 1 : 100
0,05 „	„		„	„	= 1 : 200 u. s. w.

Dann werden die Proben für 20 Stunden bei 37° gehalten; war das Serum für die betreffenden Bazillen spezifisch, dann sind die ersten Verdünnungen wasserklar geworden: die Bazillen liegen in einem

Digitized by Google

Häufchen mit unregelmäßigen, sternförmigen Grenzen am Boden. Stärkere Verdünnungen sind noch nicht ganz geklärt, doch sieht man die Agglutination an den unregelmäßigen Grenzen des Bodensatzes. Die Kontrollflüssigkeit dagegen hat ihr milchiges Aussehen bewahrt; war sie zu konzentriert bereitet, so ist auch hier ein Bodensatz entstanden, der aber eine runde, knopfförmige Gestalt hat, die von der sternförmigen der agglutinierten leicht zu unterscheiden ist (ZfH. 44. 183).

Die Serumdiagnose b) zur Erkennung der Krankheit beim erkrankten Tier oder Menschen:

M. Ficker hat zur Ermöglichung einer gleichheitlichen Methode mit einer geeigneten Kultur für die Herstellung steriler Rotzbazillensuspensionen nach Art seines Typhusdiagnostikums folgende Vorschrift gegeben (HR. 05. 649):

Anlegung von Kulturen auf Glyzerinagar (5 % Glyzerin, 1½ % Agar), erst am Tage vor der Beimpfung schräg erstarren lassen; das Ausgangsmaterial soll eine 1 Tag alte Kartoffelreinkultur sein, die ihrerseits wieder von einer frisch aus Rotzknoten mittels Glyzerinagar gewonnenen Kultur stammt.

Die ganze Oberfläche gleichmäßig beimpfen und dabei mehrmals mit dem Fußwasser überspülen; 24 Stunden bei 37 ° züchten.

Jedes Röhrchen mit 10 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung abschwemmen.

Die Aufschwemmung in sterilen Erlenmeyerkölbchen mit Glasperlen von 3 mm Dchm. etwa 5 Minuten lang durchschütteln.

Filtration durch sterile Filter (Schleicher & Schüll Nr. 595).

Nachspülen mit Kochsalzlösung (für je 1 Röhrchen 30 ccm gerechnet); Spülflüssigkeit aufs Filter geben.

Filtrat für 20 Stunden bei 54 ° aufstellen.

Danach mit 4 % Glyzerin und 0,25 % Acid. carbol. liquefact. versetzen, in schmalen Reagenzgläsern verteilen und diese auf 1 Tag in den Eisschrank stellen.

Am nächsten Tage soviel abgießen, daß im Röhrchen ein Rest von 1 ccm verbleibt.

Das Abgegossene in sterile Flaschen füllen, dann dunkel und kühl aufbewahren. (Im Handel zu haben von E. Merck in Darmstadt.)

Mit dieser Aufschwemmung, die sich jedenfalls 4 Wochen hält, wird die Agglutinationsprobe durch Zusatz von verdünntem Krankenserum in abgestuften Mengen im Brütschrank bei 37 ° angestellt.

J. Schnürer, der weniger peinlich hergestellte, bei 60 ° abgetötete Kulturen nimmt, hält die mit dem fraglichen Serum verdünnten Proben erst 1 Stunde lang bei einer Temperatur von 52 bis 54 °, wodurch der Agglutinationsvorgang beschleunigt wird, und dann für 16 bis 24 bis 36 Stunden im Brütschrank (näheres s. C. 39. 180).

Diphtheritische Hautgeschwüre werden durch Diphtheriebazillen hervorgerufen, es gibt aber auch klinisch ähnlich aussehende, die durch andere Bakterien, meist Streptokokken bedingt sind; welche Erreger vorliegen, wird durch Ausstriche auf Loefflersches Blutserum nebst Kontrollaussaaten auf gewöhnlichen Agar oder auf Gelatineplatten festgestellt werden müssen. Die Diphtheriebazillen können Hautgeschwüre veranlassen, wenn sie von den kranken Kindern mit den Fingern, die

Digitized by Google

sie zum Munde geführt haben, durch Kratzen an verschiedenen Körperstellen, an die Finger selbst, an den Eingang der Nase, des Afters, der Scheide u. s. w. übertragen werden. Auch Wunden können mit ihnen infiziert werden, am ehesten die beim Luftröhrenschnitt Diphtheritischer gesetzten. J. Seitz fand sie in einem Panaritium neben Eiterkokken bei einem Patienten, der die Gewohnheit hatte, an den Fingernägeln zu kauen und der auf den gesunden Mandeln Diphtheriebazillen beherbergte (r. MmW. 99. 1544). Hala begegnete ihnen im Abszeß der Jochbeingegend und des Unterkieferperiostes bei einem Kinde (r. C. 30. 260). In meinem Institut sind zweimal Xerosebazillen gefunden worden, einmal im exzidierten Wurmfortsatz und ein andermal bei Cholecystitis purulenta. Einmal wurden bisher nicht bekannte anaerobe Bazillen vom Aussehen der Xerosebazillen aus einem stinkenden Eiter von J. Poda isoliert, aber nicht weiter verfolgt.

Der **Hospitalbrand,** die sogenannte phagedänische Wunddiphtherie, hat ursächlich mit der Bretonneauschen Diphtherie nichts zu tun. H. Vincent hat dabei enorme Mengen schlanker, manchmal gebogener, unbeweglicher Stäbchen nachgewiesen, die an die Bazillen des malignen Oedems erinnerten, aber an den Enden oft dünner und abgerundet waren; sie bildeten unter dem pseudomembranösen Belag eine das ganze Stratum Malpighi förmlich in Reinkultur einnehmende Lage, auch Bindegewebe und Muskeln waren befallen. JG —. Als Begleitbakterien fielen besonders Spirillen in bald größerer, bald geringerer Reichlichkeit auf. Schnitte wurden mit Karbolmethylenblau kalt gefärbt, dann einige Sekunden mit Jodalkohol 0,01 : 200 behandelt, hierauf in Alkohol mit oder ohne Zusatz von Fluorescein oder Safranin übertragen, dann in Xylol und Balsam. Züchtungs- und Impfversuche an Tieren verliefen erfolglos. A. Coyon dagegen sah einen ähnlichen Prozeß beim Meerschweinchen entstehen, wenn eine Wunde durch Zerreißung der Muskulatur angelegt und ein Stück der Schwarte und 1 ccm Wundeiter vom erkrankten Menschen hineingebracht worden war (AP. 96. 494 und 660). Le Dantec will Bazillen wie Vincent schon 1884 bei derselben Krankheit beobachtet haben (r. HR. 98. 811) und A. Brabec begegnete in einem 1901 beobachteten Fall von Nosokomialgangrän im Eiter und in den Geweben den Vincentschen Bazillen, sowie den zarten Spirillen (r. C. 32. 105). Weiteres siehe bei Bac. fusiformis S. 340 und 372.

Bei **Scharlach** sind vielfach Streptokokken gefunden worden und zwar nicht bloß regelmäßig im Belag der Mandeln, sondern auch im Blute und in den Organen als Ausdruck einer lokalen Affektion oder einer Septikämie als Begleit- und Nachkrankheit. Sie sind aber jedenfalls nicht die Erreger der Krankheit, diese sind vielmehr noch unbekannt.

Der **Rotlauf** des Menschen wird durch Kettenkokken hervorgerufen; es sind dieselben, die als Streptococcus pyogenes den Anlaß zu Entzündungen und Eiterungen an den verschiedensten Stellen des Körpers geben, vom einfachen äußerlichen Abszeß an bis zu tödlichen Bauchfellentzündungen, Septikämien ohne jegliche Eiterung, Puerperal-

Digitized by Google

fieber und anderen von Wunden ausgehenden Infektionen mit nachweisbarer oder nicht ermittelbarer Eintrittspforte. Im letzteren Falle liegt kryptogenetische Septikämie (W. O. v. Leube) vor, die von irgend versteckten Eintrittspforten der äußeren oder inneren Körperoberfläche ihren Ausgang nehmen kann.

Streptokokken. Der im Jahre 1883 von Fehleisen nachgewiesene Streptococcus erysipelatos ist also von dem 1884 von F. J. Rosenbach von ihm abgetrennten Streptococcus pyogenes nicht verschieden. Als Varietäten dagegen sind die Streptokokken mit langen gegenüber denen mit kurzen Ketten zu trennen, die man auch unter dem Sammelnamen Streptococcus longus und Str. brevis in zwei Gruppen zusammenfassen kann. Im Körper ist der Unterschied nicht besonders ausgesprochen, in ihm finden sich gewöhnlich nur kurze Kettchen oder gar nur Diplokokken; in der Kultur treten die Unterschiede deutlicher hervor, insbesondere in flüssigen Nährsubstraten. Der Str. longus bildet Ketten bis zu 50 Diplokokkenpaaren und oft noch viel mehr, beim Str. brevis enthalten die Kettchen zumeist nur wenige Paare. Doch gibt es auch mittellange Streptokokken, bei denen die Entscheidung schwerer wird, ob man sie zu den langen oder kurzen zählen soll. Ein weiteres, wenn auch nicht durchgreifendes Unterscheidungsmerkmal ist, daß der Str. longus die Bouillon klar läßt, der Str. brevis sie trübt. Bei typischen, frisch aus dem menschlichen Körper gezüchteten langen Streptokokken sieht man eine vollkommen klare Bouillon und viele Stippchen (einzelne Kolonien) in der Kuppe und an der Wand des Reagenzglases hängen, die nach dem Umschütteln schneeflockenartig in der Flüssigkeit wirbeln. Nach Durchschickung durch den Tierkörper, speziell nach Mäusepassagen, kommt es vor, daß der Str. longus in späteren Generationen die Bouillon trübt. Der Str. brevis trübt die Bouillon schon in der ersten Generation.

Zuckerzusatz ist dem Wachstum günstig; jedoch wird durch die aus dem Zucker gebildete Säure die Kultur bald geschädigt. M. H. Gordon fand durch Lackmuszusatz zur zuckerhaltigen Bouillon, daß nicht alle Streptokokkenarten Säure bilden (C. 37. 728).

Auf Agar wachsen kleine, sehr zarte Kolonien, die bei schwacher Vergrößerung zumeist farblos und ohne Zeichnung sind, ähnlich denen der Pneumokokken, nur etwas größer. Manche (saprophytische) Arten lassen unter dem Mikroskop eine zarte gelbliche Färbung erkennen. Das in Fig. 9 der Taf. II dargestellte maschenförmige Gefüge zeigt sich sehr oft nicht; seine Bildung scheint von der Beschaffenheit des Agars abzuhängen.

Auf Gelatine wächst der Streptokokkus des Erysipels langsam, ohne zu verflüssigen. Manche Streptokokken kommen bei Zimmertemperatur nicht fort.

Die Kultur auf Agar und in Bouillon, sowie das mikroskopische Aussehen der Streptokokken ermöglichen eine Unterscheidung der verschiedenen Stämme nur bis zu einem gewissen Grade, für eine weitergehende Auseinanderhaltung reichen sie nicht hin. Mehr ließe sich mit Hilfe des Agglutinationsverfahrens erwarten, jedoch begegnet man hier verschiedenen Schwierigkeiten (s. u. a. H. Fischer, C. 37. 449). Auch die Hämolysinwirkung erwies sich zur Unter-

Digitized by Google

scheidung verschiedener Arten nicht sehr geeignet (s. J. Kerner, C. 38. 223). Immerhin lassen sich Agglutination und Hämolysinbildung bis zu einem gewissen Grade verwenden, indem bei positivem Ausfall mit großer Wahrscheinlichkeit auf die Pathogenität eines z. B. außerhalb des Körpers gefundenen Stammes geschlossen werden darf (P. Th. Müller, AfH. 56. 90).

Mit bluthaltigem Agar hat H. Schottmüller pathogene Streptokokken zu differenzieren versucht und vom Str. erysipel. einen Strept. mitior seu viridans wegen der schwarzgrünen Farbe seiner Ansiedlungen auf diesem Nährboden unterschieden. Für Tiere war dieser Str. mitior so gut wie nicht pathogen, er zeigte höchstens Giftwirkung bei massiven Gaben. Die hellrote Farbe der Blutbouillon wandelte er in braunrot, der Str. erysipel. dagegen in burgunderrot um (MmW. 03. 850). Indessen ist nach H. Rieke auch bei Str. erysipel. braunrote Färbung infolge Bildung von neutralem Methämoglobin aus Oxyhämoglobin nach eingetretener Hämolyse zu beobachten, wenn er unter häufigem Umschütteln oder in seichter Schicht 2 bis 4 Tage gezüchtet wird (C. 36. 321). Nach E. Fraenkel stimmt der Str. mitior die blaue Farbe des Lackmusnutroseagars (s. S. 95) rascher und intensiver in rot um als der Str. erysipel. (MmW. 05. 1868).

Die Streptokokken sind absolut unbeweglich; sie färben sich leicht und behalten die Farbe nach Gram, wenigstens die menschenpathogenen. Ihre einzelnen Glieder sind durchaus nicht kreisrund, sondern abgeplattet, oft so beträchtlich, daß sie wesentlich breiter als lang aussehen; nicht selten beobachtet man auffallend große dicke Kokken im Verbande. Wenn die Teilung auch zumeist nach einer Richtung hin statthat, kommen doch auch Verzweigungen vor, die Kokken und Ektoplasma gleichzeitig betreffen, wie dies bei der gabligen Verzweigung in Fig. 10 der Taf. II der Fall ist; das sich verzweigende Ektoplasma ist als sehr blasse Hülle zu erkennen.

Die Widerstandsfähigkeit der Streptokokken ist geringer als die der Staphylokokken; getrocknet halten sie sich monatelang. E. Germano fand sie im getrockneten Sputum nach 5 Monaten, kurze Streptokokken aus Peritonitis an Seidenfäden im Exsikkator aufbewahrt, fand ich noch nach 1 Jahr 4 Monaten lebend.

Zum Tierversuch eignen sich Mäuse und Kaninchen, nahezu unempfänglich sind Meerschweinchen. Bei subkutaner Uebertragung vom Menschen auf die weiße Maus kann sich die Infektion lange Zeit hinziehen, es bildet sich dann ein einem Hauthorn ähnlicher Schorf an der Impfstelle; ich beobachtete einmal, daß eine Maus erst 111 Tage nach der Impfung starb. Organstückchen von ihr auf eine andere übertragen töteten sie nach 38 Tagen, aber von der 3. Passage ab war der betreffende Streptokokkus an den Mäusekörper gewöhnt und tötete Mäuse in der Folge in 1 bis 3 Tagen (L. Heim, MmW. 94. 429); sie zeigten verklebte Augen, Schwellung der Drüsen, eitrige Bauchfellentzündung, vergrößerte Milz, die von einigen oder von vielen gelben Stellen besetzt war, ferner Vergrößerung der Leber, der Nieren und Streptokokkengehalt sämtlicher Organe.

Impfungen am Menschen sind in der Absicht gemacht worden, ein Erysipel zu erzeugen, um dadurch bösartige Geschwülste zum

Digitized by Google

Schwinden zu bringen. Bei diesen Versuchen zeigte sich nicht nur, daß ein Streptokokkenstamm nach vielen Passagen durch das Tier für den Menschen weniger wirksam werden kann, sondern ferner auch, daß bei den einzelnen Individuen eine verschiedene Empfänglichkeit besteht; während bei dem einen Menschen ein Erysipel auftrat, entwickelte sich bei einem anderen höchstens eine kleine Pustel; beim empfänglichen Individuum gelang es, im Zwischenraum von 1 bis 2 Wochen immer wieder neue Infektionen zu machen, bei einer Kranken 11mal hintereinander (R. Koch und J. Petruschky, ZfH. 23. 477). Klinisch bedeutsam ist die bei der Streptokokkeninfektion vorhandene großzackige Fieberkurve (R. Koch). Ein wirksames Streptokokkenserum herzustellen haben sich viele Forscher bemüht. Ein polyvalentes ist das Aronsonsche aus der chemischen Fabrik a. A. vormals Schering in Berlin.

Beim Erysipel entstehen kleine oder ausgedehnte Blasen auf der Haut, die mit klarer, seröser Flüssigkeit gefüllt sind. Oft findet man ihren Inhalt keimfrei; manchmal aber gehen daraus in der Agarkultur Streptokokken in Reinkultur oder mit anderen Bakterien zusammen auf. Solche Streptokokken sind fürs erste nicht einwandfrei als die Erreger des Erysipels anzusehen; denn, wie H. Kurth hervorhob, finden sich Streptokokken als sekundäre Eindringlinge auch im Inhalte von Blasen, die mit dieser Krankheit nichts zu tun haben, so beim Pemphigus, selbst bei Brandblasen.

Im Inhalte von **Pocken- und Impfpusteln** können ebenfalls Bakterien vorkommen, oft sind solche in der animalen Lymphe, die durch Abkratzen vom Kalbe gewonnen ist, vorhanden, umso spärlicher, je sorgsamer und reinlicher bei der Lymphegewinnung verfahren wurde. Sehr häufig findet sich der Staphylococcus quadrigeminus (Vanselow und Czaplewski), ein Hautmikrophyt, der sich von dem ähnlichen Staph. pyog. aureus u. a. durch Züchtung auf erstarrtem Blutserum unterscheiden läßt, das von ihm verflüssigt wird, dagegen vom Staph. pyog. aur. nicht (C. 25. 141). Als Erreger der Pocken und der Vakzineaffektion gilt der von G. Guarnieri 1882 gesehene sogenannte Cytoryctes variolae, ein im Protoplasma der Epithelzellen parasitierendes Protozoon. Schon vor ihm hatten A. van der Loeff und L. Pfeiffer unabhängig voneinander Protozoen im Inhalt der Pockenpusteln beschrieben. Er wurde mit Erfolg zuerst von Guarnieri auf die Hornhaut von Kaninchen und anderen Tieren überimpft. In der Vakzinepustel wurde er ebenfalls gefunden; dort ist er wie nach dem Durchgang durch den Körper des Rindes in einer für den Menschen abgeschwächten Varietät als Cytoryctes vaccinae vorhanden. Von der mit Vakzinelymphe erfolgreich geimpften Kornea des Kaninchens gelang es v. Wasielewski nach vielen Generationen noch Kinder und Kälber mit Erfolg zu vakzinieren (ZfH. 38. 240), und L. Voigt empfahl die durch Aufstreichung des Impfstoffes auf den rasierten Kaninchenrücken gewonnene „Lapine“ wegen ihrer Reizlosigkeit und aus anderen Gründen zur Verwendung bei der Schutzimpfung des Menschen (r. HR. 06. 110).

Digitized by Google

Zellgewebsentzündungen und Ausgänge.

Bei Phlegmonen, die eine Eiterbildung noch nicht erkennen lassen, gelingt es bereits im Blute, das man im entzündeten Bezirke durch Skarifikation entnommen hat, die Erreger nachzuweisen. Noch sicherer selbstverständlich in dem schließlich gebildeten Eiter. Wenn man darauf achtet, daß von dem nach dem Einschnitt herausquellenden Sekret nur solche Teile mit einer Platinöse abgenommen werden, die nicht mit den Hauträndern in Berührung gekommen waren, ist die Entnahme genügend einwandfrei. Größere Mengen werden in sterilen Reagenzgläsern oder Kölbchen aufgefangen; einige Hautkeime, die zufällig mit hineingeraten sein sollten, schaden nicht viel, sie stören die Untersuchung nicht. Zu aller Vorsicht kann man, um das Sekret für längere Zeit mit dem ursprünglichen Keimgehalt zu haben, einige Seidenfäden mit dem Eiter tränken; man lege sie dann in Chlorcalciumröhrchen (s. S. 284 und 321).

Im Laboratorium ist stets zuvörderst die Aussaat zu machen. Die Wahl der Nährböden hängt von dem vermuteten Krankheitserreger ab, in den meisten Fällen genügt der Ausstrich auf eine oder einige Agarplatten; auf jede mache man mit einem Platindraht oder einer Oese 3 bis 6 parallele (sich nicht kreuzende) Striche in möglichst weiten Abständen und stelle die Schale umgekehrt in den Brütschrank. Wenn man dann einige Seidenfäden mit Eiter u. dergl. tränkt und im Exsikkator aufbewahrt, ist für lange Zeit Material zur Züchtung vorhanden, das verwendet werden kann, wenn das Ergebnis der ersten Aussaat zweifelhaft sein sollte.

Es verlohnt sich dann ferner, außer auf andere feste Nährböden in Bouillon zu impfen, denn wenn man dabei auch auf den Vorteil des festen Nährbodens verzichtet, ist doch die Möglichkeit, daß noch etwas angeht, am ehesten hier gegeben.

In jedem Falle hat man unterdessen die mikroskopische Untersuchung gemacht, die einen Anhalt gibt, was man zu erwarten hat. Man färbe mit rotstichigem Loefflers Blau, das ganz kurz abgespült und rasch abgetrocknet wird, um etwa metachromatisch färbbare Bestandteile (rötlich gefärbten Bakterienschleim) nicht zu übersehen, ferner jedesmal ein Präparat nach Gram, denn nirgends differenzieren sich die Eiterkokken besser als dabei. Außerdem kann man einen dritten Ausstrich mit 2proz. wäßriger Gentianalösung und einen vierten mit sehr verdünnter Farbe (2 Tropfen dieser Lösung auf 10 ccm destillierten Wassers s. S. 43) behandeln.

Bakterienfreie Eiterung ist wohl durch chemische Mittel, wie Terpentinöl, Kadaverin u. s. w. oder durch Proteinsubstanzen von abgetöteten Bakterien oder höheren Pflanzen, z. B. durch Weizenkleber (chemotaktische Wirkung nach Leber, Pfeffer, H. Buchner) erzeugt worden, aber das war nur künstlich und kommt in Wirklichkeit für die Entstehung von Eiterungen kaum in Betracht.

Findet man bei der mikroskopischen Untersuchung den Eiter frei von Kleinwesen, so lasse man sich dadurch nicht beirren. Entweder waren die Erreger bereits abgestorben, oder, was gewöhnlich ist, sie

Digitized by Google

sind mit unseren einfacheren Hilfsmitteln nicht nachweisbar. Zunächst denke man an das Vorhandensein von Tuberkulose.

Kalte Abszesse sind ausnahmslos auf Tuberkelbazillen zu untersuchen; man färbt unter Ausschluß des Vorhandenseins von Smegmabazillen, legt außerdem Kulturen auf Glyzerinkartoffeln an und impft ein Meerschweinchen mit dem Eiter in die Bauchhöhle.

Geht in den Ausstrichen auf Agar nichts an, so ist das gewissermaßen ein negativer Beweis für das Vorhandensein von Mikroorganismen, die auf gewöhnlichen Nährböden nicht züchtbar sind, also z. B. der Tuberkelbazillen.

Die Ausstriche bleiben übrigens manchmal auch steril, trotzdem daß im mikroskopischen Ausstrich Bakterien zu sehen waren; das weist auf das Vorhandensein von Anaerobiern hin. Man leite dann Züchtungen unter anaerobiotischen Bedingungen ein und impfe Agar- und Bouillonröhrchen nach einem der S. 146 ff angegebenen Verfahren. Uebrigens verrät sich ein Eiter, der Anaerobier enthält, gewöhnlich schon dadurch, daß er stinkt. Es können natürlich neben Anaerobiern auch die gewöhnlichen Eitererreger oder andere Bakterien vorhanden sein.

Von den häufigsten Mikroorganismen des Eiters seien abgesehen von Tuberkelbazillen, Gonokokken, weichen Schankerbazillen u. a. folgende genannt:

Staphylococcus pyogenes aureus A i p JG + (Taf. III, Fig. 13 und 14). Er ist im Eiterausstrich entweder als Diplokokkus oder in Form kleiner Häufchen zu sehen, in der Reinkultur sind die Kokken etwas kleiner als die des Streptokokkus und liegen in Haufen, die nicht selten eine traubenförmige Gestalt haben, weshalb sie von A. Ogston 1882 mit dem Namen Traubenkokken belegt wurden. Manchmal bemerkt man in der Reinkultur ganz kurze Kettchen, so daß ein vorsichtiger Untersucher an eine Verunreinigung denken kann. Auf Gelatineplatten entstehen nach einigen Tagen goldgelbe Kolonien mit napfförmiger Verflüssigung, die bei schwacher Vergrößerung dunkelgelbbraun ohne erkennbare Zeichnung und anfangs scharfrandig, später stumpf gezähnelt sind. Im Stich tritt strumpfartige Verflüssigung ein. Auf Agarplatten sind die Kolonien schon nach 6 Stunden sichtbar, oft nur grauweiß und erlangen dann erst nach einigen Tagen ihre gelbe Farbe; bei schwacher Vergrößerung sind selbst die jungen Ansiedlungen gelb, innen dicker, am Rande fein punktiert, sie fließen gerne zusammen. Die schleimige Beschaffenheit der Kulturen findet im Ausstrich insoferne ihren Ausdruck, als zwischen den Kokken eine die Farbe schwach annehmende Schicht liegt. Bouillon wird trüb. Milch gerinnt zwischen 1 bis 8 Tagen.

Die orangegelbe Farbe ist nach H. v. Schrötter durch Lipoxanthin bedingt, denn konzentrierte Schwefelsäure bringt in den Kulturen eine indigoblaue Färbung hervor, die nach längerer Einwirkung des Reagens in rotviolett übergeht (C. 18. 781).

Die Eiterungen, die der Staphylokokkus beim Menschen macht, sind verschieden, vom kleinsten Furunkel bis zur schweren Osteomyelitis und Septikopyämie. Ohne neue Eindringung kann eine Staphylokokkenerkrankung von abgekapselten Keimen früherer Herde aus

Digitized by Google

entstehen, selbst nach 30 und 35 Jahren ist das Auftreten osteomyelitischer Herde und zwar jedesmal an der Tibia beobachtet worden (J. Schnitzler, C. 15. 270).

Für Tiere ist der Staphylokokkus weniger pathogen. Das empfänglichste Versuchstier ist das Kaninchen; es ließen sich bei ihm subkutane Abszesse, eitrige Bauchfellentzündung und Allgemeininfektion erzielen (P. Reichel, MmW. 94. 960), Osteomyelitis durch intravenöse Einspritzung, wenn vorher eine Verletzung der Knochen gesetzt wurde (A. Becker, F. Krause u. a.). Ein leidlich virulenter Stamm tötet bei intravenöser Injektion von 0,01 ccm eintägiger Bouillonkultur ein mittelgroßes Kaninchen in 4 bis 8 Tagen; manche erweisen sich als widerstandsfähiger oder ganz refraktär (M. Neißer, Hdb. d. path. Mikr. 3. 126). Auch Mäuse lassen sich benutzen; ihnen spritzt man 0,25 oder weniger Kubikzentimeter in die Bauchhöhle; sie sterben dann nach 3 Tagen; drei Mäuse, denen der Eiter selbst einverleibt worden war, sah ich nach 3 Wochen eingehen, ohne daß Bakterien in ihren Organen zu finden gewesen wären; ähnliches beobachtete J. Petruschky später mit staphylokokkenhaltigem Blut (ZfH. 17. 85).

Die Widerstandsfähigkeit ist die größte unter den nicht sporentragenden Kleinwesen. Bei 60° sind die Keime auch nach 1 Stunde noch nicht alle abgestorben, 70° müssen ½ bis 1 Stunde wirken und in 80° warmer Flüssigkeit sind 15 Minuten zur sicheren Abtötung erforderlich (W. v. Lingelsheim). An Seidenfäden haftende Staphylokokken gingen in 60 bis 62° warmer Sodalösung von 2 bis 5% in 15 Minuten, in 10proz. in 5 Minuten zu Grunde (Simon, ZfH. 43. 348). Trocknung verträgt der Staphylokokkus sehr lange; H. Jaeger erhielt noch aus steinhart gewordener, 2 Jahre alter Kartoffelkultur eine neue. Von chemischen Desinfektionsmitteln töten ihn ab:

1proz. Karbolsäure binnen 1 bis 1½ Stunden (Vahle, HR. 93. 901);

5proz. Karbolsäure binnen 15 bis 20 Minuten;

2½proz. Karbolschwefelsäurelösung binnen 2 bis 3 Minuten (K. Fischer und F. Koske, KGA. Arb. 19. 577);

½ promill. Sublimatlösung noch nicht in 3 Minuten (Krönig und Paul).

Die Toxine, die auch in filtrierten Kulturen vorhanden sind, äußern sich zunächst in Leukozytenanlockung, Abszeß- und Nekrosenbildung. Bei 60° wird dieses Toxin zerstört, hitzebeständig ist dagegen ein Gift (Protein) mit lokal reizender und allgemein toxischer Wirkung (v. Lingelsheim).

Ferner kennt man ein Gift, das Leukozyten verändert und schließlich abtötet: das Leukozidin (H. van de Velde); endlich ein blutkörperchenlösendes, ein Hämolysin, das Staphylolysin (R. Kraus; M. Neißer und F. Wechsberg, ZfH. 36. 299). Ueber die Art und Weise der Prüfung einer Staphylokokkenkultur auf ihre hämolysierende Fähigkeit s. S. 236.

Die Antistoffe, die im Blutserum genügend vorbehandelter Tiere (Ziegen und Kaninchen) gefunden wurden, sind: ein Antileukozidin, ein Antistaphylolysin und von W. Kolle und R. Otto (ZfH. 41. 369) ein Agglutinin.

Das Antistaphylolysin haben C. Bruck, G. Michaelis und E. Schultze beim erkrankten Menschen gefunden und zur Diagnose

UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Digitized by Google

des Vorhandenseins einer Staphylokokkenerkrankung verwertet. Sie nahmen so viel Staphylokokkenkulturfiltrat, als der doppelten völlig lösenden Menge des betreffenden Stammes entsprach, setzten wie im Staphylolysinversuch physiologische Kochsalzlösung bis 2 ccm und 1 Tropfen defibriniertes Kaninchenblut zu und stellten eine Anzahl (6—8) Röhrchen auf, zu denen das zu prüfende menschliche Blutserum in fallenden Mengen von 0,2 ab bis herab zu 0,001 ccm zugegeben wurde. Nach 2stündigem Stehen bei 37° und 24stündiger Aufbewahrung im Eisschrank wurde abgelesen, bis zu welchem Punkte das Serum der Kranken die Hämolysinwirkung verhindert hatte (ZfH. 50. 144).

Einen im Blutserum Osteomyelitiskranker gebildeten Antistoff gegen das peptonisierende Enzym des Staphylokokkus macht E. v. Dungern also sichtbar: kleine Reagenzgläser von gleicher Weite werden bis zu einer bestimmten Marke mit einer Auflösung von 7% Gelatine in konzentrierter wäßriger Thymollösung gefüllt (vergl. S. 232); auf die feste Gelatine wird dann 1 ccm frisch verflüssigter Gelatinekultur von Staph. pyog. aur. (2% Gelatine) mit oder ohne Zusatz von 1 ccm Thymolwasser geschichtet. Von zwei derartig beschickten Röhrchen kommt dann in eins etwas Blutserum vom Kranken. Im Kontrollröhrchen, das mit ebensoviel Blutserum vom Gesunden versetzt worden ist, tritt Verflüssigung durch das Enzym der Staphylokokken ein, in der mit Serum versetzten Probe bleibt die Wirkung aus. Die antipeptonisierende Wirkung betrug in einem besonders deutlichen Fall 1/250 ccm, was der 20fachen Menge entspricht, die von normalem Blutserum zur Aufhebung der Verflüssigung erforderlich war (r. MmW. 98. 1158).

Ein Immunserum hat Pröscher von Ziegen und Pferden gewonnen, das Kaninchen gegen die tödliche Dosis (0,5 ccm Bouillonkultur intravenös) in der Menge von 1,5 ccm schützt, wenn es 24 Stunden vor der Infektion gegeben wird (DmW. 03. 195).

Varietäten sind der Staph. pyog. citreus und der Staph. albus. Was den letzteren betrifft, so habe ich ihn bis jetzt aus menschlichem Eiter noch niemals bekommen, obgleich ich seit etwa 20 Jahren auf ihn fahnde. Als Hautmikrophyt ist ein weißer Staphylokokkus nicht selten; Neißer und Wechsberg, die drei Stämme von normaler Haut auf Hämolysinbildung untersuchten, fanden solche nicht, es konnte sich also nicht um pyogene Staphylokokken gehandelt haben; außerdem standen ihnen noch 2 Stämme von Staph. albus aus Eiter zur Verfügung und auch von diesen bildete nur einer Hämolysin, dieser war allerdings in Reinkultur aus einem Hautabszeß erhalten worden (ZfH. 36. 309). Der Staph. pyog. albus ist also mindestens sehr selten, und wer ihn nicht in Reinkultur in entsprechenden Mengen im Eiter findet, wird immer an eine Verunreinigung durch Hautkeime denken müssen.

Im gefärbten Ausstrich von Kulturen weißer Staphylokokken der Haut fielen mir öfters hintereinandergelagerte Kokken mit einer feinen Teilungslinie auf, so daß sie das Aussehen eines Kettchens boten, durch dessen Längsachse nochmals eine Teilung geht, mitunter auch Tetradenformen.

Streptococcus pyogenes ist nicht minder häufig allein oder mit Staphylokokken oder mit anderen Bakterien zusammen der Erreger

Digitized by Google

von Zellgewebsentzündungen, und zwar sowohl der Str. longus, als der brevis (s. S. 332). Mit ihm darf der Diplococcus lanceolatus nicht verwechselt werden, der als Entzündungserreger auch in anderen Organen als in der Lunge vorkommen kann. Pneumokokkenabszesse verlaufen meist gutartig. Auch der Pneumobazillus Friedländers kommt ab und zu als Erreger von Abszessen oder Septikopyämien vor.

Der **Micrococcus tetragenus.** Ainl JG + (Taf. II, Fig. 12), von R. Koch gesehen und von G. Gaffky aus Lungenkaverneneiter reingezüchtet, wurde hie und da auch sonst im Eiter (einmal in der pneumonischen Lunge) gefunden. Er besitzt eine Kapsel, in der scheinbar Tetraden oder 6 bis 8 Kokken liegen. Die Kapseln sind im Tierkörper sehr ausgesprochen und geben mit rotstichigem Methylenblau die Muzinreaktion (Rosafärbung); nicht minder regelmäßig und hübsch ist sie in Blutserumkulturen zu sehen; man erhält schöne Bilder, wenn man vom Oberflächenhäutchen einen Ausstrich macht, mit Sublimatalkohol oder Alkohol fixiert und dann z. B. mit Thionin färbt. Sonst vermißt man auf künstlichen Nährböden die regelmäßig gebildeten Kapseln; wohl aber sieht man schleimige Massen, die sich entweder gleichmäßig färben oder bei etwas stärkerer Fixierung des Präparates in der Flamme spinnweben- oder netzartige Gerüste zwischen den Bakterien bilden. Im ungefärbten Präparat erscheint bei entsprechender Abblendung ein heller Hof, ähnlich, nur etwas breiter wie bei Sarzinen. Im übrigen finde ich nichts, was gegen meine Auffassung spräche, daß der Micrococcus tetragenus eine pathogene Sarzine ist. Auch die Gelatine- und Agarkultur, die makroskopisch rein weiß und kuppenförmig ist, sieht bei schwacher Vergrößerung wie eine Sarzinekolonie aus: die schwarzgraue Ansiedlung ist in der Mitte dick und löst sich nach dem Rande zu in lauter isolierte viereckige Täfelchen oder Würfelchen auf, die ihrerseits aus einer Menge einzelner Tetraden bestehen (Taf. II, Fig. 11).

Der Micr. tetrag. tötet weiße Mäuse in 1½ bis 7 Tagen. Die früher behauptete Immunität der grauen Hausmäuse gegen ihn ist durch A. Lode widerlegt worden (C. 29. 298). Die Virulenz hält sich in getrockneten Kulturen oder Blutproben mehrere Jahre lang (s. S. 247).

Bakterien der Koligruppe finden sich mitunter in Abszessen, namentlich solchen, die in der Nähe des Darmkanals liegen, aber auch an entfernteren Stellen. In einem extraperitonealen Abszeß nach Scharlach habe ich 2 Koliarten gefunden, die den eigentlichen Erreger, den Streptococcus longus, verdeckt hatten, so daß er erst durch die Mäusepassage ermittelt werden konnte. Sie sind von M. Deeleman (C. 26. 501) genauer studiert worden; der eine Stamm enthielt bewegliche Stäbchen und erweichte Gelatine in späteren Generationen leicht, der andere enthielt unbewegliche Stäbchen ohne Peptonisierungsvermögen.

Typhusbazillen erregen im Anschluß an die Allgemeinerkrankung oder längere Zeit nachher manchmal Eiterungen, namentlich periostale Abszesse an der Tibia mit eigentümlich schleimigem Eiter. Auch von Paratyphusbazillen ist diese Eigenschaft bekannt und es ist deshalb in jedem Falle die Differentialdiagnose durch Kultur und

Digitized by Google

Agglutination notwendig, um zu erfahren, ob diese oder andere Arten der Gruppe vorliegen.

Der **Bac. pyocyaneus** A m p JG —, eigentlich ein sekundärer Ansiedler auf dem Eiter, dem er die bekannte blaugrüne Farbe verleiht, ist mit krankheitserregenden Eigenschaften begabt und vermag sich insbesondere im geschwächten Organismus anzusiedeln und Entzündungserscheinungen, Eiterungen und schwere Erkrankungen bis zu allgemeiner Sepsis hervorzurufen (s. r. MmW. 06. 1186). Die Stäbchen sind entweder schlank oder kurz und plump, auf Agar auch in Scheinfäden mit Andeutung von Verzweigungen. Er besitzt eine endständige Geißel. Pigmente bildet er zweierlei, einmal ein auch anderen fluoreszierenden Bakterien eigenes, das in Wasser löslich, aber in Chloroform unlöslich ist, und dann ein nur ihm eigenes, das Pyocyanin, das in Chloroform löslich ist; reduzierende Stoffe wandeln es in seine Leukobase um und in der Tiefe der Kulturen ist es als solche enthalten, bei Sauerstoffzutritt erscheint es in der charakteristischen Farbe; durch Säurewirkung (Salzsäure) wird es rot, durch Alkalien blau. Ein drittes von C. Gessard angenommenes rotbraunes Pigment soll nach G. W. Boland (C. 25. 897) bloß ein Umwandlungsprodukt aus dem Pyocyanin sein, und A. Wassermann, dessen Abhandlung (Hdb. d. path. Mikr. 3. 471) diese Angaben entnommen sind, glaubt nicht, daß man nur auf Grund verschiedener Farbentöne einzelne Varietäten und Rassen anzunehmen berechtigt sei. Ich führe seit Jahren zwei Stämme fort, von denen der eine regelmäßig beim Altern ein tiefdunkelrotbraunes Pigment bildet, das dem anderen, stets auf den gleichen Nährböden fortgezüchteten fehlt, und erachte diese beiden für Varietäten, weil der eine vom anderen durch ein markantes und konstantes Merkmal unterschieden ist.

Nach A. Wassermanns Versuchen ist von den kleinen Versuchstieren das Meerschweinchen am empfindlichsten, es erliegt einem gut virulenten Stamm bei intraperitonealer Einimpfung von $^1/_{10}$ Oese innerhalb 24 Stunden, von $^1/_{20}$ Oese innerhalb 2 bis 3 Tagen, Kaninchen sind weit weniger empfänglich; Ziegen können an einer intravenösen Einführung von 1 Oese sterben. Nach A. Charrin wirken die Kulturfiltrate giftig. A. Wassermann versetzte 40tägige Kulturen mit Toluol und gewann so das Gift; 0,2 bis 0,5 ccm töteten Meerschweinchen akut. Die Gifte werden durch 5 Minuten lange Erhitzung auf 100° nicht zerstört, sondern nur geschwächt, so daß immerhin noch 1 bis 2 ccm die Tiere töten. In der Hauptsache handelte es sich dabei um ein echtes, abgesondertes Toxin, nebenbei auch um Endotoxin.

Die **Proteusarten** Hausers kommen in stinkendem Eiter vor. Sie wurden von ihrem Entdecker*) zufolge des wechselnden Aussehens so genannt, das diese bald kurzen, bald längeren oder in Scheinfäden verbundenen geißelreichen Stäbchen aufweisen. Besonders interessant ist ihr von G. Hauser sehr schön beschriebenes Vermögen der Ausschwärmung; von einer Einzelansiedlung aus kann ein großer Gelatine-

*) G. Hauser, Ueber Fäulnisbakterien und deren Beziehungen zur Septikämie. Leipzig bei F. C. W. Vogel 1885.

Digitized by Google

bezirk überwuchert werden, ohne daß ein Zusammenhang zwischen den zahlreich gewordenen korkzieher-, zopfartigen und schlingenförmigen Ansiedlungen noch zu sehen wäre; am besten wird die Ausschwärmung in dünner (5proz.) Gelatine beobachtet. Hauser trennte 3 Arten, einen Proteus vulgaris und mirabilis, die die Gelatine stets verflüssigen, und einen Proteus Zenkeri, der sie nicht verflüssigt. Proteusarten zeigen ferner oft die auffallende Erscheinung, daß Gelatine von Angehörigen derselben Reinkultur verflüssigt wird oder nicht. Das hat H. Jäger (ZfH. 12. 525) bei dem von ihm als Erreger des infektiösen Ikterus nachgewiesenen Bac. proteus fluorescens festgestellt (s. Taf. VI, Fig. 38).

Ein von ihm sogenanntes Bact. pyogenes ramosum isolierte W. K. Stefansky aus geruchlosem Eiter am Schienbein; es war ein pleomorphes, kurzes, dickes, kokkenförmiges Stäbchen (A m nl JG—), das auf Agar mit 5proz. Kochsalz Y-förmige Verzweigungen bildete und auch bei Luftausschluß wuchs. Bei Meerschweinchen und Kaninchen rief es subkutan injiziert Abszesse hervor, Tauben dagegen starben nach Einimpfung von 2 bis 3 Oesen der Agarkultur in die Brustmuskeln in 20 bis 24 Stunden. Filtrierte, ja selbst durch Kochen abgetötete Bouillonkulturen töteten Tauben in 5 bis 6 Tagen. Verf. stellte es zur Proteusgruppe (C. 31. 86).

Bac. fusimoris (Vincent), von J. Seitz Bac. hastilis genannt, traf W. Silberschmidt (C. 30. 159) im stinkenden Eiter einer Phlegmone des Oberschenkels und Kniegelenks, der Lunge und des Gehirns, im Lungensaft noch mit Strepto- u. a. Kokken, überall aber mit zarten, feinen, schlecht färbbaren Spirillen (Spirochäten?) vergesellschaftet. In den ersten Generationen gingen in Bouillon und auf erstarrtem Rinderblutserum die fadenartigen fusiformen Bazillen nebst den Spirillen an, aber nie in Reinkulturen, und mit dem Eiter selbst gelang es bei Mäusen und Meerschweinchen durch subkutane und intramuskuläre Injektionen Abszesse zu erzeugen, in denen nach 4 Passagen durch das Meerschweinchen noch Spießformen und Spirillen nachweisbar waren (siehe auch D. Veszprémi, C. 38. 136). H. Vincent hat die Spießerbazillen zusammen mit Spirochäten bei Hospitalbrand (s. S. 331) und bei Mandelentzündungen (s. S. 373) gefunden, J. Seitz in verschiedenen Mundhöhlen mit allerlei Affektionen. Eine Reinkultur wurde nicht erzielt, wohl aber Entwicklung unreiner Kulturen mit Gestank und Gasbildung in Serum und Bouillon ohne Zuckerzusatz (ZfH. 30. 47).

Spirillen sind bisher in drei Fällen gesehen worden: von D. Mezinescu bei Pyelitis calculosa (C. 35. 201), ferner von R. Doerr bei eitriger Pleuroperikarditis das Spirillum pyogenes (A i JG—); es wuchs langsam in Bouillon und auf Agar mit Menschenserum oder Ascitesflüssigkeit (C. 38. 15). Ein anaerobes Spirillum nigrum AA m nl JG—, das auf Gelatine u. s. w. kohlschwarze Ansiedlungen bildet, fand E. Rist bei seinen Untersuchungen von gangränösen, stinkenden Eiterungen auf Anaerobier; die Isolierung gelang ihm mit der Methode von Veillon (s. S. 146), der zuerst 1893 auf das

Digitized by Google

Vorkommen von Anaerobiern bei fötiden und gangränösen Prozessen hinwies.

Anaerobier. E. Rist isolierte neben dem Spir. nigrum noch 3 Kokken- und 8 Bazillenarten (C. 30. 287), von diesen ist später Bac. funduliformis (J. Hallé) von C. Kißkalt im riechenden Eiter gefunden worden (DmW. 05. 1270). Siehe auch S. 347 über Bazillen der Gasphlegmone.

Die **Bubonenpest** ist die häufigste Form der Krankheit, deren Erreger den ganzen Körper durchsetzen und während der letzten Lebenstage oder wenigstens -stunden im Blute zu finden sind, ferner auch im Auswurf, inbesondere bei Vorhandensein der in manchen Epidemien häufigeren Pestpneumonien. In ungeheuren Mengen sind die Pestbazillen im Saft und im Gewebe frischer Bubonen und Karbunkel vorhanden, weniger im Inhalte der aufbrechenden oder bei eintretender Reife angeschnittenen Bubonen.

Die Anweisung zur Bekämpfung der Pest, festgestellt in der Sitzung des Bundesrats vom 3. Juli 1902 (Berlin bei J. Springer 1902), enthält in der Anlage 1 eine Anweisung zu Entnahme und Versendung pestverdächtiger Untersuchungsobjekte und in der Anlage 7 eine Anleitung für die bakteriologische Feststellung der Pestfälle, für die Gewinnung des zur Untersuchung geeigneten Materials und eine Beschreibung des Gangs der Untersuchung. Da jedes Krankenhaus oder Institut, sowie jeder Arzt, dem Pestfälle vorkommen können, diese Anweisung besitzen muß, sei auf die um 30 Pfennig im Buchhandel zu habende Schrift lediglich verwiesen. Es sei ferner daran erinnert (s. S. 129), daß Arbeiten mit und Aufbewahrung von lebenden Erregern der Pest nur mit Erlaubnis der Landeszentralbehörde und in besonderen Räumen gestattet und für deren Einrichtung besondere Vorschriften erlassen sind (s. S. 69 der genannten Anweisung). Hier nur einiges über die bakteriologischen Merkmale:

Der **Bacillus pestis** A i n l JG—, von A. Yersin und S. Kitasato zuerst gefunden, ist ein streng aerobes Stäbchen, in der Regel kurz und abgerundet, doch auch 2- oder 3mal so lang als breit, im ganzen größer als die Erreger der Geflügelpest (Hühnercholera), mit denen die Stäbchen (nicht ihre Kulturen) morphologische Aehnlichkeit haben. Beide gehören zur Gruppe der Baz. der hämorrhagischen Septikämie, beide vergären Zuckerlösung nicht und zeigen nach etwa 25 Minuten langer Fixierung in abs. Alkohol Polfärbung mit Methylenblau u. dergl. (s. Taf. V, Fig. 30). Man kann nach E. Horniker (C. 32. 926) die Wirkung von Alkohol und Farbe vereinen, indem man die Präparate mit einer Lösung von Gentianaviolett oder Methylenblau in 85 bis 90proz. Alkohol 1½ bis 2 Minuten färbt.

Wie die Bakterien der Hühnercholera ungefährlich für den Menschen sind, so lassen sich mit den Erregern der Menschenpest Vögel nicht infizieren. Auf gewöhnlichen Nährböden wachsen die Bazillen der Bubonenpest rascher und üppiger. Bei Zimmertemperatur bilden sie auf Gelatine lange, gewundene Scheinfäden (Taf. V, Fig. 31). Sie haben die Eigentümlichkeit, bei niedrigen Wärmegraden fortzukommen,

Digitized by Google

deshalb verwendet man zu ihrer Isolierung aus Fäulnisgemischen Eisschranktemperatur, um sie von den dort langsamer wachsenden Fäulnisbakterien zu trennen. Im Körper zeigen sie oft Degenerationserscheinungen, indem die plumpen Stäbchen mehr Kugelform annehmen und sich nicht mehr an den Polen färben lassen, so daß die Gebilde ein bläschenförmiges Ansehen bekommen. Weitere und intensivere Involutionsformen bilden sie auf Nährböden mit höherem Salzgehalt. Bei 55 bis 60° gehen die meisten Pestbazillen schon binnen 10 Minuten zu Grunde; will man ganz sicher sein, so läßt man 65° eine Stunde wirken.

Die Pest ist eine Krankheit der Ratten, es sind aber noch viele andere Nagetiere empfänglich, so die Meerschweinchen, die im Laboratorium benutzt werden, weil sie auch an abgeschwächtem und sehr verdünntem Material erkranken, wenn es in die rasierte und sonst unverletzte Haut eingerieben wird (Verfahren der österreichischen Pestkommission, s. a. S. 164).

Es gibt, was insbesondere bei der Diagnose der Rattenpest bemerkenswert ist, noch andere pestähnliche, für Ratten pathogene Bazillen; mehrere von ihnen hat R. O. Neumann studiert und ZfH. 45. 450 beschrieben.

Furunkel und Karbunkel. Im gefärbten Ausstrich aus einem Furunkel sieht man gewöhnlich Diplokokken, mit dem Plattenverfahren wird man weitaus am häufigsten die gelben Staphylokokken, mitunter Streptokokken, selten andere Bakterien erhalten. Daß der Staphylococcus pyogenes aureus Furunkel erzeugt, ist durch einwandfreie Versuche dargetan, so von C. Garré, E. Bumm, M. Bockhart u. a., die an sich selbst durch Einreibungen von Reinkulturen die Infektion erzeugten. Die Einwanderung der Kokken findet längs der Haare zwischen Schaft und Wurzel statt. Panaritien haben im allgemeinen dieselben Erreger wie die Furunkel.

Die **Pustula maligna** (Anthrax-Karbunkel) kommt bei Leuten vor, die mit Milzbrandkadavern zu tun haben, ferner nicht selten in Roßhaarspinnereien, Haar- und Borstenzurichtereien, sowie Bürsten- und Pinselmachereien, so daß durch Reichsgesetz vom 22. Oktober 1902 verschiedene Vorsichtsmaßregeln und eine Desinfektion der Waren vorgeschrieben worden sind. Histologische Untersuchungen über den Milzbrandkarbunkel finden sich u. a. bei G. Frank (Festschr. f. R. Koch 03. 253).

Der Nachweis der Milzbrandbazillen in Sekreten aus Karbunkeln oder in herausgeschnittenen Hautstückchen (namhafte Chirurgen, wie v. Bergmann, Bramann u. a., operieren den Karbunkel nicht), der Nachweis ferner im Leichenblut und in tierischen Organen gilt im allgemeinen für wenig schwierig, es kommen aber Fälle vor, in denen man auf ungeahnte und merkwürdige Hindernisse stößt (s. S. 345).

Der **Bacillus anthracis** ist ein sporenbildendes, vollkommen unbewegliches Stäbchen, JG +, hat eine Schleimkapsel, wächst rasch und üppig bei Bluttemperatur auf Agar, etwas weniger schnell auf Gelatine, die verflüssigt wird, und bildet seine Sporen bei Zimmer-

Digitized by Google

wärme, besser bei höherer Temperatur (am besten bei 37°), aber niemals im Körper. Da er einer der größten unter den Krankheitserregern ist, scheint seine Erkennung nicht schwer, nur ist er im Körper unter dem Einflusse der bakterienfeindlichen, auflösenden Eigenschaft des Organismus mancherlei Schädigungen und Veränderungen unterworfen.

Im Körper empfänglicher Tiere, die an Milzbrandseptikämie gestorben sind, findet man die Stäbchen meist in jedem Gesichtsfeld in größerer oder geringerer Menge. Bei der Gramschen Färbung wird der Bazillus dunkelblauviolett, die Schleimhülle erscheint in der Gegenfarbe. Diese Kapsel, von A. Serafini 1888 zuerst gesehen, ist bezeichnend für den Bazillus im Gewebsausstrich und kommt sehr schön mit dem Verfahren nach A. Johne zur Darstellung:

Färbung des fixierten Deckglasausstriches mit 2proz. wäßriger Gentianalösung warm, d. h. über der kleinen Flamme, bis zur leichten Dampfbildung.

Eintauchen in 2proz. Essigsäure für 6 bis 10 Sekunden.

Abspülung mit Wasser; Deckglas auf der präparatfreien Seite mit Fließpapier trocknen und mit dem an der Schichtseite haftenden Wassertropfen auf einen Objektträger legen.

Die blauen Bazillen sind mit einer ungefärbten Kapsel umgeben (Taf. IX, Fig. 55).

Die Färbung der Kapsel gelingt mit allen Farben, die die Muzinreaktion geben, in differenzierender Weise, so mit rotstichigem Methylenblau, Methylenazur, Thionin, Lauthschem Violett, Formalingentianaviolett, Safranin, Muzikarmin. Am einfachsten ist die Verwendung von Loefflerschem Methylenblau, wenn es mit der Ausschüttlungsprüfung als geeignet befunden worden ist (s. S. 41). Bei Methylenblau-Eosin-Gemischen kann ein Zweifel bestehen, was von den rotgefärbten Teilen durch den einen oder den anderen Farbstoff rot geworden ist. Bei der Herstellung der Präparate hat man nur die Vorsicht zu beobachten, daß die Wasserspülung möglichst kurz geschehe und daß sofort zwischen Filtrierpapier gut getrocknet wird, weil das Wasser die rosa Farbe der Kapsel bald auszieht; aus diesem Grunde sind Objektträgerpräparate handlicher als solche auf Deckgläschen.

Mittels dieser Reaktion kann man am deutlichsten sehen, wie die Milzbrandbazillen im Körper der Tiere zum Teil ausgelaugt und aufgelöst worden sind; während die ungeschädigten Bazillen als dunkelblaue Stäbchen mit regelmäßig gestalteter rosa Kapsel erscheinen, findet man bei den geschädigten den „blauen Teil" teilweise oder ganz verschwunden und den rosa Teil allein, entweder noch in seiner ursprünglichen Gestalt mit feinsten violetten oder dunkelgefärbten Pünktchen (Resten zerfallener Stäbchen) im Inneren oder ohne diese und wie zerflossen in Form von Detritus bis zu größeren und ganz großen rotgefärbten inselförmigen Schollen und Klumpen, bei der Maus am meisten in der Impfstelle und der Lunge, am ausgebreitetsten in der Lunge und im Herzblut des Meerschweinchens.

In Kulturen kommen Bazillen mit roten, meist unregelmäßig begrenzten Kapseln und rote Trümmer und Schollen hauptsächlich bei Verwendung von Blutserum vor, seltener auf Agar, hier besonders in jungen Kulturen der ersten Generation aus dem Tierkörper, namentlich wenn man etwas Blut mit überimpft hat (L. Heim, MmW. 04.

Digitized by Google

426). Streicht man etwas Kondenswasser mit aus, so bemerkt man nach der Färbung, daß zwischen den gutgefärbten Scheinfäden und dem schwachgefärbten Untergrund ein scheinbar leerer Raum ist, ein Zeichen, daß die Bazillen noch von einer auf die gewöhnliche Weise nicht darstellbaren Hülle, jedenfalls einem Ektoplasma, umgeben sind.

Die Kolonien auf Gelatineplatten sind weiß, glänzend, unregelmäßig begrenzt, bei schwacher Vergrößerung undurchsichtige, fast schwarze Knäuel mit höckerigem oder in Locken, Windungen und Zöpfe aufgelöstem Rande. Im Stich wachsen die Ausläufer in die Gelatine horizontal hinein, von der Oberfläche her schreitet eine trichterförmige Verflüssigung nach der Tiefe zu vor. Auf Agar entstehen bei Brütwärme dicke Rasen bis 1 cm und darüber, mit lockigem Randgefüge (s. Taf. IX, Fig. 51); Bouillon bleibt, wenn man sie nicht schüttelt, ganz klar; auf dem Grunde, manchmal auch innerhalb der Flüssigkeit bemerkt man eine schleimige Masse. Manche Stämme trüben die Bouillon leicht, doch ist das selten, und man denke dann immer an die Möglichkeit einer Verunreinigung. Bleibt Einsaatmaterial in den oberen Schichten am Glase haften, dann wachsen die schleimigen Konvolute auch von dort aus, ein faltiges Oberflächenhäutchen aber ist jedenfalls eine Verunreinigung.

Die gebräuchlichsten Versuchstiere sind Meerschweinchen und Mäuse; auch Kaninchen erliegen der Infektion; jedoch ist dies nicht so sicher, wenn der betreffende Stamm nicht hochvirulent ist; auch weiße Mäuse sind für einen in der Virulenz etwas beeinträchtigten Stamm nicht immer empfänglich. Virulente Bazillen töten nach G. Sobernheim (ZfH. 25. 309) bei Verimpfung von $^1/_{20000000}$ Oese genau so sicher wie bei Verimpfung einer ganzen Oese, nur tritt im letzteren Falle der Tod nach 24 bis 36 Stunden, im anderen erst nach 5 bis 6 Tagen ein; eine Maus stirbt bei subkutaner Infektion

an $^1/_{100}$ Oese nach 24 bis 30 Stunden,
„ $^1/_{100}$ bis $^1/_{10000}$ Oese nach 32 bis 40 Stunden,
„ $^1/_{100000}$ Oese nach 50 bis 58 Stunden,
„ $^1/_{500000}$ Oese nach 75 bis 83 Stunden,
„ $^1/_{5000000}$ Oese in etwa 4 Tagen,
„ $^1/_{20000000}$ Oese nach 5 bis 6 Tagen.

Hat die Virulenz durch längere Fortzüchtung Einbuße erlitten, so gelingt es nach E. Metschnikoff, A. Dieudonné u. a., sie durch Verimpfung auf Tauben wiederherzustellen (Hdb. d. path. Mikr. 2. 37).

E. v. Behring und H. Much dosierten in der Art, daß sie von 2tägiger Bouillonkultur, in der die Bazillen durch Umschütteln gleichmäßig verteilt waren, je 0,001 ccm auf 1 g Gewicht einspritzten, und bezeichneten die Kultur als vollvirulent, wenn danach akuter Milzbrand eintrat und im Blut reichlich Bazillen gefunden wurden, als schwachvirulent, wenn die Tiere später und zwar nicht vor Ablauf von 5 Tagen starben, als avirulent, wenn sie am Leben blieben (DmW. 04. 3).

Nicht alle beim spontan erkrankten Menschen oder Tier gefundenen Bazillen sind hochvirulent. Man muß deshalb neben einem Tierversuch immer noch eine Kultur anlegen; ja selbst die erste Reinkultur kann noch nicht richtig virulent sein; aus einer von mir untersuchten nicht mehr ganz frischen Kalbsmilz war es erst die zweite Generation auf Agar (L. Heim, ZfH. 50. 142). F. Fischoeder hat den

Digitized by Google

Rat gegeben, von der Impfstelle der Maus ein gefärbtes Präparat zu machen, weil man nicht sicher weiß, ob sie erliegen wird; allenfalls vorhandene Milzbrandbazillen lassen sich schon 2, spätestens aber 6 Stunden nach der Impfung leicht und in großer Anzahl mikroskopisch nachweisen (r. C. 34. 567). Im kreisenden Blute erscheinen die Bazillen erst spät, nicht lange vor dem Tode.

In einem Milzbrandkarbunkel finden sich die Bazillen oft recht geschädigt vor; sie sind schmäler als man sie sonst zu sehen gewohnt ist, färben sich schlechter, einzelne Abschnitte gar nicht, rosa Kapseln sind angedeutet oder fehlen, anderseits sieht man ganz oder nahezu typische Stäbchen, die kaum zu einem Zweifel Anlaß geben; trotzdem darf die Anlegung einer Agarkultur und auch einer Bouillonkultur (selbst bei vorhandenen Fäulnisbakterien) nicht versäumt werden.

Aus einem herausgeschnittenen, in einer Pinselfabrik entstandenen Karbunkel ging auf Agar unter anderem eine große Kolonie auf, die man für eine von Milzbrandbazillen halten konnte. Sie war aber von anderen, ähnlichen sporentragenden Stäbchen gebildet, wie sie in dem Material, das in solchen Betrieben verarbeitet wird, regelmäßig vorkommen. Von Anthraxkeimen fand sich unter vielen anderen Kokken und Stäbchen nur eine einzige sehr kleine Ansiedlung auf der Platte. Man hat also in solchen Fällen auch milzbrandähnliche Bazillen zu erwarten, deren Unterscheidung von den echten erst durch die klar bleibende häutchenfreie Bouillonkultur und durch den Tierversuch möglich wird; nicht zu unterlassen ist die Betrachtung im hängenden Tropfen (die milzbrandähnlichen zeigen oft Eigenbewegung), sowie die Färbung nach Gram; wir bekamen aus verdächtigen Tierhaaren eine Kultur, die die Bouillon klar ließ und aussah wie eine Milzbrandkultur, die aber durch den negativen Ausfall der Gramschen Färbung sogleich und die Unschädlichkeit der Maus gegenüber später als solche ausgeschlossen werden konnte.

Im Blute und in den Organen von Verstorbenen finden sich die Milzbrandbazillen gewöhnlich rein, jedenfalls ist noch kein Fall bekannt geworden, daß auch milzbrandähnliche Stäbchen gefunden worden wären.

Blut und Organe von milzbrandkranken oder von gefallenen Tieren treffen in der Regel in faulem Zustande im Laboratorium ein. Darum soll an Ort und Stelle Blut angetrocknet werden. Wenn Seidenfäden nicht vorhanden sind, können nach J. Bongert Objektträger genommen werden, auf die das Blut in dicker Schichte aufgetragen werden soll (C. 34. 786). Andere empfahlen, Nährsubstrate mit Blut zu benetzen und einzusenden, so daß sich schon während des Transportes die Sporenbildung vollziehen kann; Olt schlug vor, eine gekochte Kartoffel in der Mitte aufzubrechen, nach Einbringung von Blut wieder zuzuklappen und dann keimsicher aufzubewahren (Kartoffelbazillen können hier recht störend werden, auch ist die Verschmierung der gewachsenen Kultur zu fürchten). J. Forster gibt ein sterilisiertes Gipsstäbchen in einem sterilen Gefäße hinaus, das in einem Holzklotz in bekannter Weise verpackt ist. Der Gipsstab ruht auf Watte. Vor Gebrauch wird er 1 Minute lang in gewöhnlichem, reinem Brunnenwasser benetzt und ins Glas zurückgebracht, damit die unten liegende Watte feucht wird; hierauf wird er herausgenommen

Digitized by Google

und ins Blut oder in Milzsaft getaucht, bis daß er eben nur blaßrot aussieht, ins Glas gesteckt und in der Holzhülse ans Laboratorium gesandt; dort wird etwas abgeschabt, in Bouillon übertragen, 1 bis 2 Minuten lang bei 62° gehalten und davon auf Agar ausgesät; dieses Verfahren wird bei negativem Ausfall nach 2 Tagen wiederholt, nachdem das Gipsröhrchen unterdessen bei nicht mehr als 20 bis 22° im Dunkeln aufbewahrt worden ist (Marxer, Z. f. Fleisch- u. Milchhyg. 05. 129; J. Forster, C. 40. 751).

Zu Verwechslungen können, wie erwähnt, viele an tierischen Fellen vorkommende Bazillen Anlaß geben. Im Anfange der bakteriologischen Forschung sorgte man sich viel um solche mit dem Bazillus des malignen Oedems, einem obligaten Anaerobier, der schon dadurch leicht auszuschalten ist, daß er bei Luftzutritt nicht angeht. Er unterscheidet sich ferner durch sein etwas schmächtigeres Aussehen (Taf. IX, Fig. 52) und durch Beweglichkeit im hängenden Tropfen, die er allerdings als Anaerobier bei längerer Betrachtung unter Luftzutritt einstellt. Dieser von L. Pasteur gesehene und von ihm Vibrion septique genannte Bazillus wurde 1881 von R. Koch und G. Gaffky (KGA. Mittlg. 1. 87) studiert. Seitdem sind viele Bazillen unter diesem Namen beschrieben worden, die ihm mehr oder weniger ähnlich, aber wohl vielfach nicht mit ihm identisch gewesen sind. Einwandfreier ist er erst wieder von A. Schattenfroh und R. Graßberger, sowie von A. Ghon und M. Sachs (s. C. 36. 182) unter Vergleichung mit einem Originalstamm des Vibrion septique aus dem Pasteurschen Institut gefunden worden, und zwar u. a. in zwei Fällen von Gasgangrän.

Die **Gasgrangrän,** auch Gangrène foudroyante, Gasphlegmone, Gasbrand genannt, ist mit vielfach widersprechenden Ergebnissen bearbeitet worden. A. Ghon und M. Sachs haben in die auseinandergehenden Mitteilungen Ordnung zu bringen versucht und dargelegt, daß sich unter demselben klinischen Bilde, bei denselben pathologischen Erscheinungen ätiologisch verschiedene Erkrankungen befinden können. Zunächst seien zwei Erreger zu unterscheiden, einerseits der Bacillus phlegmones emphysematosae (E. Fraenkel), A A i n l JG +, oder Bac. aerogenes capsulatus (W. H. Welch), der auch als Erreger der Schaumorgane (s. S. 319) in Betracht kommt, anderseits der Bac. oedematis maligni, A A m p JG —; je nachdem der eine oder der andere Erreger gefunden werde, empfehle es sich, von „malignem Emphysem“ oder von „malignem Oedem“ zu sprechen, anstatt von Gasgangrän. Die Erkrankung, die durch den oder jenen Bazillus hervorgerufen wird, zeigt übrigens unter Umständen auch gewisse Verschiedenheiten im pathologisch-anatomischen Bilde.

Die sonst bei dieser Erkrankung gefundenen Erreger sind nicht immer genau mit der einen oder der anderen der beiden Arten zu identifizieren gewesen, stehen jedoch der einen oder der anderen Gruppe näher. Hinsichtlich der Beschreibung der Bazillen, sowie der Darstellung der verwickelten Literatur sei auf die Abhandlung von Ghon und Sachs (C. 34 bis 36), G. Werner (AfH. 50. 274) und L. Kamen (C. 35. 686) verwiesen. Die beiden genannten Anaerobier sind Sporenbildner, nur ist es beim Bazillus des malignen Emphysems, der im Tier-

Digitized by Google

körper unter noch unbekannten Umständen Sporen bildet, in Kulturen noch nicht gelungen, die Sporulation regelmäßig und sicher in die Erscheinung treten zu lassen.

Wundstarrkrampf kann vorkommen, wenn mit Erdekeimen behaftetes Material unter die Haut oder in eine Wunde eingeführt wird. Darum denke man bei auftretender Erkrankung stets an einen Fremdkörper, der entfernt werden soll; vielfach ist es ein Holzsplitter, bei Platzpatronen ist die Fließpappe tetanuskeimhaltig gefunden worden (O. Schjerning u. a., r. BkW. 03. Lit. 70). Nach der Verletzung entsteht oft eine Eiterung, die von Begleitbakterien herrührt; der Tetanuserreger selbst macht keine Eiterung, die Krankheit kann sogar ausbrechen, wenn die Wunde bereits überheilt ist. Die Tetanusbazillen dringen (einige Ausnahmebeobachtungen abgerechnet) nicht in den Körper hinein, sie wirken lediglich durch das am Invasionsort gebildete Krampfgift.

Der **Bacillus tetani,** A A m p JG +, ist schlank, mit knopfförmig aufsitzenden endständigen Sporen, die ihm ein trommelschlegel- oder kochlöffelartiges Aussehen verleihen (Taf. IX, Fig. 53). Er besitzt zahlreiche, stark geschlängelte Geißeln. Trotzdem daß er ein obligater Anaerobier ist, wächst er bei Gegenwart von Aerobiern auch ohne Luftabschluß, und zwar bei alkalischer, neutraler und saurer Reaktion des Substrats, ohne daß er Säure oder Alkali bildet, rascher bei Brütwärme als bei Zimmertemperatur und entwickelt dabei einen eigentümlichen, unangenehm brenzlichen Geruch. Seine Sporen werden je nach den vorhandenen Nährbedingungen eher oder später gebildet und können der Einwirkung des strömenden Dampfes bis etwas über 30 Minuten widerstehen, die meisten sind allerdings binnen 15 Minuten abgestorben; in derselben Kultur sind nicht lauter gleichresistente Keime (E. Levy und H. Bruns, Mittlg. a. d. Grenzgebieten 10. 235).

In den Kulturen werden lösliche, abfiltrierbare Gifte gebildet, von denen zwei genauer studiert sind, ein Hämolysin, das Tetanolysin, (Th. Madsen, ZfH. 32. 214) und das für die Pathogenese hauptsächlich in Betracht kommende Krampfgift, das Tetanospasmin, das in größter Verdünnung noch seine verderbliche Wirkung äußert, und gegen Luft und Licht in feuchtem Zustande sehr empfindlich ist. Versuchstiere sind verschieden empfänglich. A. Knorr fand, wenn eine hochwertige Giftlösung eingespritzt war, noch tödliche Wirkung im Verhältnis von

1 : 1500 Millionen g Körpergewicht bei Meerschweinchen in 6¼ bis 10 Tagen,
1 : 150 „ „ „ „ Mäusen „ 3½ „ 11½ „
1 : 1 Million „ „ „ „ Kaninchen „ 2 „ 7 „

und wenn die Menge Gift, die 1 g Pferdegewicht tötet, gleich eins gesetzt ist, so braucht (MmW. 98. 321):

1 g Pferdegewicht = 1
1 „ Meerschweinchen 2mal
1 „ Ziege 4mal
1 g Maus 13mal
1 „ Kaninchen 2000mal
1 „ Huhn 200000mal mehr Gift.

Ein zur Schutzimpfung wie zur Heilung brauchbares Serum ist nach E. v. Behring hergestellt im Handel (s. S. 263 f.).

Der Nachweis des Tetanusbazillus im Wundeiter ist nicht leicht.

Digitized by Google

Mikroskopisch muß man oft lange suchen, bis man die schlanken sporenfreien oder gar die trommelschlegelartigen sporentragenden findet; die Isolierung mittels des Plattenverfahrens gelingt meist nicht. Dabei ist zu bedenken, daß eine derartige Wunde gewöhnlich noch mit anderen Erdekeimen infiziert ist; und im Boden gibt es viele ähnliche köpfchensporenbildende anaerobe Bazillen. Bei einem tödlich endigenden Fall von komplizierter Fraktur des Vorderarms durch Sturz vom Baum konnte ich in der Kultur aus dem Eiter des amputierten Stumpfes viele solche Bazillen finden, die teilweise durch ihre Länge, jedenfalls durch ihre Ungefährlichkeit für Tiere auszuschalten waren. Fehlen solche Doppelgänger, dann kann man möglicherweise mit dem Verfahren von S. Kitasato Erfolg haben, dem die bis dahin erfolglos versuchte Reinkultur also gelang (ZfH. 7. 225):

Tetanuseiter wurde auf schräg erstarrtem Blutserum oder Agar ausgebreitet und bei 36 bis 38° im Brütschrank gehalten. Wenn nach 48 Stunden Bazillen mit Köpfchensporen zu sehen waren, wurde die Kultur in ein vorher auf 80° erwärmtes Wasserbad gebracht und ¾ bis 1 Stunde darin gelassen, wonach die Tetanussporen noch am Leben, fremde Keime aber abgestorben waren. Mit so behandelten Kulturen wurden Mäuse geimpft, die an Wundstarrkrampf starben; außerdem wurde eine Platinöse der erhitzt gewesenen Kultur in Nährgelatine verteilt, diese in Schälchen ausgebreitet und unter Wasserstoff bei 18 bis 20° gehalten. Nach 8 bis 10 Tagen hatten sich Reinkulturen von Tetanusbazillen gebildet.

Sind dagegen andere Sporenbildner, die den genannten Wärmegrad ebenfalls überdauern, vorhanden, dann ist die Gewinnung einer Reinkultur wenig aussichtsvoll, jedenfalls sehr wenig lohnend. Immerhin kann sie gelingen, wenn man die Verteilung in frisch ausgekochten Agarröhrchen bis zu größeren Verdünnungen vornimmt, dann eine hohe Agarsäule überschichtet und nach 5- bis 6tägiger Bebrütung diejenigen Röhrchen auswählt, die nur einzelne isolierte Kolonien enthalten; diese können mit einer Glaspipette (s. S. 146) oder nach Zerschneiden der in ein Petrischälchen übertragenen Agarsäule herausgefischt werden.

Für den Nachweis von Tetanuskeimen an Verbandstoffen, Instrumenten oder anderen Gegenständen kann der Versuch an Mäusen und Meerschweinchen zur Not genügen, wenn sie an tetanischen Erscheinungen, wie Steifhalten der Beine, des Schwanzes, mit Robbenstellung erkranken oder sterben. Es ist aber geratener, nicht oder nicht bloß von dem zu untersuchenden Material unmittelbar etwas zur Impfung zu nehmen, sondern erst ein Kulturverfahren einzuleiten und zwar ist hier die anaerobiotische Reinkultur nicht nötig, sondern man gibt den Tetanusbazillen Gelegenheit, in Mischkultur mit anderen Anaerobiern und Aerobiern ohne Luftabschluß zu wachsen.

Das von F. Sanfelice für den Nachweis in Bodenproben und Fäkalien erfolgreich angewendete Verfahren ist von E. Levy und H. Bruns zur Auffindung in käuflichen Gelatinetafeln, sowie von H. Racine und H. Bruns zur Untersuchung von Wattebäuschchen mit Wundsekret aus dem Gehörgange (DmW. 03. 782) sehr brauchbar gefunden worden. Hier wurde außerdem die Erfahrung benutzt, daß die Tetanusbazillen in nicht neutralisierter Gelatine vorzüglich wachsen; selbstverständlich muß sie, da sie selbst Tetanuskeime enthalten kann, einwandfrei sterilisiert sein:

Digitized by Google

Mehrere Röhrchen mit einer Lösung von 1 g Gelatine in 10 ccm Bouillon werden 3 Stunden im Dampftopf sterilisiert.

Die zu untersuchenden Proben werden hineingegeben und 8 bis 10 Tage bei 37° bebrütet.

Gegebenenfalls hat sich ein Bodensatz gebildet, der nach Tetanuskultur riecht und Trommelschlegelbazillen enthält.

Mit etwa 0,1 ccm und weniger vom Bodensatz werden Mäuse geimpft und beobachtet, wann Tetanus und allenfalls der Tod eintritt.

Da nun auch Keime gewachsen sind, von denen manche rascher tödlich wirken als Tetanuskeime, werden derartige Kulturen nach Sanfelice durch ein Bakterienfilter filtriert und das keimfreie Filtrat auf Vorhandensein von Tetanusgift geprüft. Die einzuspritzende Menge betrage für Mäuse zwischen 0,25 und 0,5 ccm, für Meerschweinchen 2 bis 10 ccm. Die meisten Bazillen der Mischkultur bilden kein Gift, manche wohl, jedoch wirkt es erst in größerer Dosis, dann aber rasch tödlich, so daß z. B. bei den erwähnten Gelatineprüfungen von Levy und Bruns Mäuse, die mit 0,4 bis 0,7 ccm Filtrat geimpft worden waren, schon nach wenigen Stunden eingingen. Darum muß man verschiedene Dosierungen nehmen, insbesondere auch niedrige.

Eiter- und Flüssigkeitsansammlungen in Körperhöhlen.

Eiterungs- und Entzündungsvorgänge am **Gehirn** und **Rückenmark** lassen sich in gewissen Fällen mit Wahrscheinlichkeit aus einem Bakterienbefund in anderen Organen diagnostizieren, häufiger und leichter, wenn Ohren- und Naseneiterungen bestehen, seltener und unsicherer, je weiter vom Gehirn entfernt die Organe liegen. Immerhin kann ein Tuberkelbazillenfund im Auswurf die zweifelhafte Diagnose auf Miliartuberkulose hinleiten, oder die Auffindung irgend einer Bakterienart im Blute die Möglichkeit einer durch sie veranlaßten Gehirnentzündung nahelegen, wenn sonstige Zeichen dafür bestehen.

Seit der Einführung der Lumbalpunktion durch H. Quincke lassen sich bakteriologische Diagnosen über Erkrankungen des Gehirns und Rückenmarks, die früher bloß nach der Trepanation und fast immer erst nach dem Tode möglich waren, auch während des Lebens machen. Von pathogenen Kleinwesen hat man bis jetzt in der Zerebrospinalflüssigkeit gefunden (H. Quincke, DmW. 05. 1825):

Tuberkelbazillen, Meningokokken, Pneumokokken, Streptokokken, Staphylokokken, Typhus-, Koli-, Influenzabazillen, Bac. aerogenes meningitidis, Micr. tetragenus, Aktinomyces, Trypanosomen, bei otogenen Meningitiden auch Anaerobier und Bakterien der Proteusgruppe.

Die Lumbalpunktion kann auch an der Leiche in Fällen, wo die Eröffnung des Schädeldachs oder des Rückenmarkkanals verweigert wird, Aufschluß bringen.

Findet dagegen die Leichenöffnung statt, dann überzeugt man sich von dem etwaigen Sitz der Krankheitsherde, ohne das Organ irgendwie zu berühren, und entnimmt mit sterilisierten Instrumenten von den krankhaft veränderten Teilen oder von allenfallsigen eitrigen Auf-

Digitized by Google

lagerungen unter den geeigneten Vorsichtsmaßregeln Material zur Aussaat, zur mikroskopischen Durchmusterung und zum Tierversuch, sowie zur Antrocknung an Seidenfäden (s. S. 321 f.).

Beim Vorhandensein einer einigermaßen größeren Flüssigkeitsmenge wird eine Portion zur Sedimentierung aufgestellt oder mit der Zentrifuge ausgeschleudert, namentlich zur Fahndung auf Tuberkelbazillen. Ein Zusatz von 2 Teilen Alkohol befördert die Niederreißung der Bakterien mit dem entstehenden flockigen Niederschlag (J. Strasburger, MmW. 00. 534). Bei Verdacht auf Tuberkulose sind jedesmal einige Aussaaten auf Glyzerinkartoffeln anzulegen.

Zur Prüfung der Flüssigkeiten oder der aus ihnen gezüchteten Reinkulturen hinsichtlich ihrer krankmachenden Wirkung gegenüber dem Zentralnervensystem wird die betreffende Probe entweder mittels Punktion in den Lumbalsack oder durch Trepanation in die Schädelhöhle eingeführt.

Meningitis cerebrospinalis (epidemica). Der Erreger der Genickstarre ist der Micrococcus meningitidis cerebrospinalis, oder Diplococcus intracellularis meningitidis, den A. Weichselbaum 1887 (FdM. 5. 583) entdeckt und H. Jaeger bei einer Epidemie 1893 bis 1895 als solchen festgestellt hat (ZfH. 19. 351). Für die Benennung der Krankheit hat E. Grawitz den Beinamen contagiosa anstatt epidemica vorgeschlagen, weil sie sehr oft vereinzelt vorkommt, ohne einen epidemischen Charakter zu haben (BkW. 05. 758). Die Uebertragung erfolgt jedenfalls durch ausgeschleuderte Tröpfchen aus dem Nasenrachenraum.

Im Exsudat des Gehirns und Rückenmarks und in der Lumbalflüssigkeit finden sich Kokken innerhalb von Leukozyten, ganz ähnlich wie bei Gonorrhöe, außerhalb liegen die Kokken zu 2, 3 und 4 beieinander. Man muß oft lange suchen und trifft dann nur ganz vereinzelte kokkenhaltige Leukozyten und freie Kokken. Die Auffindung wird erleichtert, wenn man sehr verdünnte Farblösungen (Gentianaviolett, s. S. 43) nimmt und während ihrer Einwirkung mikroskopiert. In jedem Falle ist die Gramsche Färbung anzuwenden und auf die in der Gegenfarbe erscheinenden Kokken zu achten. Ein grampositiver Kokkus kann niemals ein Micrococcus meningitidis sein; so nimmt die Mehrzahl der Autoren an; andere lassen Ausnahmen zu (s. Kob r. C. 38. 188). Auch im Blute kreist er, ist aber dort kaum anders als durch die Kultur aufzufinden. Weichselbaum und Ghon stellten ihn einmal bei der Endokarditis einer Meningitiskranken fest. Bei Krankheitsverdächtigen ist ihr Nachweis verschiedene Male im Sekret des Nasenrachenraums, zuerst von Ghon erbracht worden, später von anderen wiederholentlich. Der mikroskopische Befund darf hier allein nicht maßgebend sein, weil der sehr ähnliche Micrococcus catarrhalis in der Nase sein kann. Recht oft begegnet man bei Untersuchungen, insbesondere von eingesandtem Material ähnlichen Kokken, die sich außer durch ihre extrazelluläre Lagerung durch ihre Grambeständigkeit und ihr üppiges und leichtes Wachstum auf gewöhnlichen Nährböden ohne weiteres ausschalten lassen.

Digitized by Google

Zur Züchtung ist vor allem erforderlich, daß das zu untersuchende Sekret u. dergl. in nicht zu geringen Mengen möglichst bald zur Aussaat gelangt. Ausnahmen abgerechnet, ist der Micr. meningit. etwa nach 5 Stunden bei Zutritt von Licht und insbesondere durch die Abkühlung abgestorben. Bei Brüttemperatur hält er sich länger und vermehrt sich in der Flüssigkeit; Fr. Kalberlah hat reichliche gramnegative intrazelluläre Kokken gefunden, wenn er die Lumbalflüssigkeit 12 bis 24 Stunden bei 37° aufbewahrt hatte (BkW. 05. 1491). Eintrocknung vertragen die Meningokokken überhaupt nicht. In den erkrankten Organen nimmt ihre Menge mit der Dauer der Krankheit ab und in der Leiche erlischt ihre Lebensfähigkeit bald (A. Weichselbaum, WkW. 05. 992).

Im kreisenden Blut ist der kulturelle Nachweis zuerst von H. Lenhartz 1899 erbracht worden. Größere Mengen, etwa 20 ccm Blut (oder Lumbalflüssigkeit), werden auf 9 bis 11 Bouillon- oder Agarröhrchen verteilt und diese alsbald in den Brütschrank gestellt. Gegebenenfalls finden sich die gramnegativen Kokken im Bodensatz, vielfach in Leukozyten liegend. Die intrazelluläre Lagerung in einer solchen Anreicherungskultur konnten Martini und Rohde besonders leicht feststellen, wenn die Blutbouillon zentrifugiert und die an der Oberfläche des Zentrifugats liegende Leukozytenmasse untersucht wurde (BkW. 05. 997 und 1168).

Blut oder Blutserum oder eine ähnliche Flüssigkeit vom Menschen ist für die Züchtung am geeignetsten; von festen Nährböden also etwa Ascitesagar (G. Jochmann, BkW. r. 05. 889; W. v. Lingelsheim, Klin. Jahrb. 15. 210). Erhitztes Blut und Serum oder tierische seröse Flüssigkeiten stehen den menschlichen nach, am besten erwies sich noch das Loefflersche Serum. Von einer derartigen Kultur stammt das Taf. III, Fig. 16 photographierte Ausstrichpräparat.

Die gewöhnlichen serumfreien Nährböden taugen bloß für Fortzüchtungen, wenn sich die Meningokokken bereits an das Wachstum außerhalb des Körpers gewöhnt haben, und auch dann nicht in jedem Falle; stets soll man mehrere Röhrchen mit nicht zu wenig Material impfen, die angelegte Kultur vor Licht schützen und möglichst bald wieder in den Brütschrank stellen. Auf Agar wachsen glasige, gleichmäßig gut durchscheinende Rasen, die niemals weiß oder gefärbt aussehen (W. Kolle und A. Wassermann, klin. Jahr. 15. 297). Auf Agar mit Blut (3 : 1) ist der Belag grauviolett, ähnlich einem Tropfen Milch auf Blutagar, wie beim Gonokokkus (H. Schottmüller, MmW. 05. 1617). In Bouillon (ohne Blut) bildet sich, wenn überhaupt etwas wächst, eine diffuse Trübung und deutliche Kahmhaut, die später in Bröckel aufgelöst zu Boden sinkt (H. Albrecht und A. Ghon).

Tierversuche führten zu keinem besonderen Ergebnis; virulente Kulturen töteten zwar Meerschweinchen, Kaninchen und Mäuse durch Injektion, aber eine der Genickstarre beim Menschen gleiche Erkrankung ließ sich bei ihnen nicht erzielen, auch nicht beim Affen.

Ein zur Identifizierung von Meningokokken brauchbares hochwertiges agglutinierendes und ein für Schutzimpfungs- und Heilzwecke zu verwendendes Serum haben W. Kolle und A. Wassermann (DmW. 06. 609), sowie G. Jochmann durch Behandlung verschiedener Tiere

Digitized by Google

zu gewinnen versucht. Am geeignetsten erwies sich das Pferd, bei dem in der Fabrik von E. Merck in Darmstadt ein Agglutinationstiter bis 1 : 1500 erzielt wurde. Nach Jochmann muß dieses Serum wenigstens im Verhältnis zu 1 : 80 binnen 2 bis 24 Stunden agglutinieren, wenn ein fraglicher Stamm als echt angesprochen werden soll; dabei sind Kontrollversuche sowohl mit normalem Pferdeblutserum, als auch mit Aufschwemmungen in physiol. Kochsalzlösung, letztere wegen etwa vorkommender Spontanagglutination, anzusetzen. Für die Krankenbehandlung wurde die subkutane, noch mehr die intralumbale Einspritzung von 20 ccm Serum empfohlen (DmW. 06. 788).

Meningitiden durch andere Mikroorganismen kommen häufig vor. In der von H. Quincke zusammengestellten Reihe (s. S. 350) sind außer den Tuberkelbazillen die Pneumokokken hervorzuheben; ferner sind als Erreger zu nennen:

Der Streptococcus mucosus, den H. Schottmüller und zwar zuerst in mehreren Fällen gefunden hat, bei denen sich immer eine Otitis media als Ausgangsstelle nachweisen ließ (MmW. 05. 1617). Einmal war ein Empyem der Keilbeinhöhle vorhanden, während die Nase und ihre Nebenhöhlen und die Ohren frei waren (M. Otten, D. Arch. f. klin. Med. 06. 434).

Der Bac. pyocyaneus; H. Kossel traf ihn im eitrigen Exsudat der Pia, ausgehend von einem solchen in den Pauken- und Highmorshöhlen, als alleinigen Erreger an (ZfH. 16. 368).

Der Bac. Friedländeri ist verschiedentlich die Veranlassung von Meningitis gewesen, entweder ebenfalls im Anschluß an Entzündungsvorgänge im Mittelohr und der Nase oder als Teilerscheinung einer pyämischen Allgemeininfektion; ferner:

Der Bac. lactis aerogenes, von A. Scheib, später von H. Beitzke (C. 37. 496) als Erreger angetroffen, von dem vorigen unter anderem durch das typhusähnliche, nicht schleimige Aussehen der Kolonien unterschieden.

Milzbrandbazillen können sich bei ihrer Verbreitung im infizierten Körper auch im Gehirn ansiedeln und dort hämorrhagische Infektion bedingen.

Anhangsweise sei hier noch die Lyssa erwähnt. Man findet bei der Straßenwut die A. Negrischen Körperchen (ZfH. 43. 507) am häufigsten und sichersten im Ammonshorn als runde, ovale oder spindelförmige Gebilde. Wenn sie vorhanden sind, gilt die Diagnose als gesichert. Die Technik der Schnellhärtung und Färbung der Schnitte nach W. Bohne s. S. 61.

Brusthöhle. Um eitrige und seröse Ausschwitzungen durch Probepunktion zu gewinnen, eignet sich jede sterilisierbare Spritze, die nicht zu klein ist und eine nicht zu enge Kanüle hat. Will man die letztere vorher nochmal sterilisieren, so koche man sie in 1proz. Sodalösung aus, was in einem mit Papierstreifen oder Halter über eine Spiritusflamme gehaltenen Reagenzglas geschehen kann (s. S. 368, Fig. 207). Es werde nur am oberen Rand einer Rippe eingestochen, nachdem die Haut zuvor mit Seifenwasser und Alkohol abgewaschen, eventuell mit Aether getrocknet worden ist.

Digitized by Google

Besser ist es natürlich, wenn man größere Mengen des Transsudats zur Verfügung hat, wie sie mit Hilfe eines Aspirationsapparates oder durch die Rippenresektion gewonnen werden.

Im allgemeinen greifen hier dieselben Untersuchungsmethoden wie bei den Eiterungen und Abszessen Platz. Auch die zu erwartenden Kleinwesen sind im wesentlichen dieselben. Umfangreiche Mitteilungen liegen darüber vor; die ersten eingehenden Untersuchungen finden sich bei A. Fraenkel (Charitéannalen 13. 147) und A. Weichselbaum (Wiener med. Jahrbücher 86. 550), weitere sind dann von Netter (r. C. 8. 625), Prinz Ludwig Ferdinand von Bayern (D.A. f. klin. Med. 50. 1) und verschiedene andere veröffentlicht worden.

Als besondere Erreger kommen hier außer den gedachten Eitererregern u. s. w. die Influenzabazillen in Betracht. Protozoenähnlichen Gebilden begegnete E. Welcke in einem Falle von jauchigem Pleuraexsudat neben Streptokokken und kurzen, wahrscheinlich anaeroben Stäbchen (MmW. 98. 1088).

Die Unterscheidung zwischen Streptokokken, insbesondere kurzen, und Pneumokokken ist in den vorliegenden Fällen öfter als bei anderen Eiterungen nötig. Pneumokokken verraten sich durch ihre Form schon im gefärbten Ausstrich, sie werden weiterhin durch die Aussaat auf Agar und die Impfung von Kaninchen oder Mäusen erkannt. Es gibt Kokken, die eine Mittelstellung zwischen beiden einnehmen (s. Taf. I, Fig. 3 und 4).

Tuberkelbazillen sind häufig, sie kommen auch gleichzeitig mit anderen Bakterien, namentlich Streptokokken, sowohl in eitrigen als auch in serösen Ausschwitzungen vor.

Seröse Exsudate sind gewöhnlich tuberkulöser Natur. In der Regel bleiben die Aussaaten auf Agarschälchen steril, denn der Tuberkelbazillus wächst nicht auf gewöhnlichem Agar. Um vereinzelte Begleitbakterien nicht zu übersehen, soll man nicht zu wenig Flüssigkeit zur Aussaat bringen, mindestens etwa 1 ccm in Bouillon geben, ebensoviel mit auf 40° abgekühltem verflüssigtem Agar mischen, in Schälchen ausgießen und bei Brütschranktemperatur halten. Zur Feststellung der tuberkulösen Natur der Erkrankung ist die Färbung, die Aussaat auf geeignete Nährböden und der Tierversuch erforderlich.

Reichlich Eiweiß enthaltende Exsudate sind für die Färbung nicht günstig. Sehr oft findet man selbst in vielen Präparaten nichts. Dann muß man zu anderen Hilfsmitteln greifen. Flüssig bleibende Exsudate können ohne weiteres zentrifugiert werden, bei störendem Eiweißgehalt gießt man nach A. Wolff die danach überstehende Flüssigkeit ab, ersetzt sie durch phys. Kochsalzlösung, schüttelt die ganze Masse durcheinander und zentrifugiert von neuem.

Die oft bald eintretende Gerinnung läßt sich durch Zugabe von Natrium citricum oder von Oxalsäure verhindern. Ist aber schon Gerinnung erfolgt, dann empfiehlt sich die Widalsche Ausschüttelungsmethode, wodurch die geronnenen Pfröpfe zersprengt und die im Fibrinnetz eingeschlossenen Zellen wieder frei werden (hinsichtlich der Zelldegenerationen und ihres Nachweises s. BkW. 01. 884 und 1130; 02. 115).

Digitized by Google

Um von vornherein die Gerinnung zu verhindern, ließ E. v. Zebrowski das Exsudat in der Menge von 300 bis 500 ccm in den vorher mit etwa ebensoviel 1proz. Fluornatriumlösung gefüllten Potinschen Apparat fließen, vermengte durch Schütteln, goß den Inhalt in ein Spitzglas und ließ bis zum nächsten Tage stehen. Der Bodensatz wurde, nachdem die überstehende Flüssigkeit abgegossen war, in einzelnen Portionen zentrifugiert, die Niederschläge wurden gesammelt und mit der bekannten Methode und guter Entfärbung (zur Vermeidung von Täuschungen durch andere säurefeste Bazillen) auf Tuberkelbazillen untersucht (DmW. 05. 1425).

Für den Nachweis der Tuberkelbazillen durch Züchtung eignet sich am besten die Aussaat auf Glyzerinkartoffeln. Der dazu verwendete Bodensatz muß selbstverständlich in sterilen Gläsern und auch sonst unter aseptischen Bedingungen gewonnen sein. K. Zimmermann erzeugte, um für größere Mengen Exsudat Platz zu gewinnen, eine ausgedehntere Fläche auf zerkleinerten Kartoffelscheiben mit Hilfe eines gezackten Messers; 5 bis 10 ccm Exsudat erwiesen sich ihm als genügend, um 1 bis 2 Bazillen zur Aussaat zu bringen. Die so präparierten Kartoffelscheiben werden in Glasdosen auf Glasröhren gegeben, diese bis zum Niveau des Nährbodens mit 5proz. Glyzerinwasser gefüllt und bei 120° im Autoklaven sterilisiert, endlich mittels Gummiring gedichtet, um Austrocknung zu verhindern. Bei Vorhandensein lebender Tuberkelbazillen im Aussaatmaterial ist am 21. bis 32. Tage eine mit bloßem Auge sichtbare typische Entwicklung zu erwarten (DmW. 03. V. 150).

Wenn besonders viel auf die Sicherheit des Nachweises ankommt, ist außer der Kartoffelkultur ein Tierversuch anzustellen. Von dem ausgeschleuderten Bodensatz werden möglichst große Mengen, in Bouillon aufgeschwemmt, Meerschweinchen in die Bauchhöhle gespritzt. Von nicht zentrifugiertem Exsudat muß mindestens 1 ccm injiziert werden. Bei käsigem Material kann, wenn davon mehr als 1 ccm (2 bis 5 ccm) gegeben wird, in den ersten beiden Wochen Tod durch Intoxikation eintreten (E. Krompecher und K. Zimmermann, C. 33. 590).

Meerschweinchen, die sich in verseuchten, mangelhaft gehaltenen Ställen befunden haben, können an spontaner Einatmungstuberkulose erkrankt sein. Davor ist man selbst bei frisch angekauften Tieren nicht sicher. Wenn man die Impfung in die Bauchhöhle macht und das Tier nach 40, längstens 60 Tagen tötet, ist man im stande, die Impftuberkulose noch als solche zu erkennen, trotz einer etwaigen spontanen Erkrankung.

Bei aufmerksamer Beobachtung wird man nur selten im Zweifel sein, ob die Tuberkulose eine im Stall acquirierte Lungen- oder eine durch die Impfung bedingte Bauchtuberkulose ist, namentlich wenn man den Weg, den die Krankheitserreger gemacht haben, bis zu den der Impfstelle benachbarten Lymphdrüsen zurückverfolgen kann (genaueres bei G. Cornet, ZfH. 5. 203).

Bauchhöhle. Ausschwitzungen und Auflagerungen können ebenfalls serös oder eitrig sein; für die serösen kommt nicht bloß die Tuberkulose in Betracht. Einen herausgenommenen Wurmfortsatz kann man leer finden; wir haben in einem solchen Fall neben Streptokokken Xerosebazillen gezüchtet. Nicht immer bekommt man mit den einfachen Züchtungsverfahren ein Ergebnis; in solchen Fällen hat aber unter Umständen das mikroskopische Präparat bereits das Vorhandensein von Bakterien erkennen lassen. Dann sind Anaerobier

Digitized by Google

vorhanden. Die Notwendigkeit, bei diffuser Peritonitis auf sie Rücksicht zu nehmen, hat P. L. Friedrich betont (r. C. 32. 586).

Eitrige Bauchfellentzündungen können außerdem durch die bekannten Eitererreger bedingt sein, nicht selten kommen Pneumokokken als Ursache vor, oder es hat sich der Gonokokkus weiter verbreitet. Bei Vorhandensein von Darmerkrankungen ist der Uebergang von Kolibakterien erklärlich; bei solchen Befunden ist der Untersucher eine nähere Charakterisierung der betreffenden Art zu geben schuldig. In seltenen Fällen hat man Schimmelpilzerkrankungen vom Darm ausgehen sehen (A. Paltauf, Jahrber. 2. 328; F. Ris, r. C. 14. 406). Mehr oder weniger bunt wird das Bild beim Durchbruch der Darmwand und bei jauchigen und fötiden Ansammlungen in der Bauchhöhle. Auch hier sind neben den gewöhnlichen Aussaaten welche unter anaerobiotischen Bedingungen anzulegen. Was an Anaerobiern bis dahin gefunden wurde, haben A. Ghon und M. Sachs (C. 38. 1) zusammengestellt. Sie, sowie A. Ghon und V. Mucha haben dann zwei Fälle von Peritonitis mit von den bisherigen verschiedenen Anaerobiern beschrieben (C. 39. 497).

Gelenke. In Ergüssen oder Eiterungen sind, wenn es sich um Teilerkrankungen bei Allgemeininfektion mit bekannten Erregern handelte, wiederholt die entsprechenden Bakterien nachgewiesen worden, so z. B. Staphylococc. pyog. aur., Bac. Friedländeri, Gonokokken, Meningokokken (letztere in einem Falle von H. Schottmüller, MmW. 05. 1731). Bei Verdacht auf tuberkulöse Affektion ist die Anlegung der Kultur auf Glyzerinkartoffeln nicht zu versäumen, außerdem die Färbung und allenfalls der Tierversuch zu machen.

Beim akuten Gelenkrheumatismus ist schon vielfach nach Erregern gesucht und von verschiedenen Befunden berichtet worden, namentlich von Staphylokokken (deren Beschreibung manchmal bedenkliche Aehnlichkeit mit Hautmikrophyten erkennen ließ), oder von Streptokokken. A. Menzer hat ihnen eine Rolle bei der Erkrankung beigemessen und sich sehr bemüht, eine Behandlung mit Antistreptokokkenserum einzuführen. Sogar im Blute will man sie gefunden haben. So oft aber das Blut einwandfrei bei dieser Krankheit untersucht wurde, war das Ergebnis negativ (s. H. Schottmüller, MmW. 03. 852; J. R. Cole, r. C. 36. 175). Der Erreger des akuten Gelenkrheumatismus ist noch unbekannt.

Knochen. Eiterungen in und an ihnen werden nach der Freilegung oder Punktierung wie jede andere untersucht. Die akute Osteomyelitis ist zumeist durch Staph. pyog. aur. verursacht. Die Ansicht von P. Kraske, daß sie schließlich von jedem Mikroorganismus mit pyogenen Eigenschaften veranlaßt werden könne, hat Bestätigung gefunden, indem wiederholt Streptokokken mit oder ohne Staphylokokken, ferner Pneumokokken, mitunter Typhusbazillen nachgewiesen worden sind. E. Lexer bemerkte als auffällig bei Streptokokkenphlegmone des Knochenmarks die helle, etwas grünliche Farbe des dünnflüssigen Eiters und die fast gleichzeitige Verfärbung des entzündeten Knochenmarks (r. MmW. 98. 416). Ueber die pathogene Hefe Saccharomyces Busse, die in einem Knochenherd der Tibia gefunden wurde, siehe

Digitized by Google

S. 314. Bei 6 Osteomyelitiden des Unterkiefers sah S. Kartulis in Alexandrien Amöben (r. C. 33. 471).

Mit der Außenwelt durch Fistelgänge in Verbindung stehende Knochenherde sind oft tuberkulöser Natur. Hier wird nächst der Färbung auf den Tierversuch zurückzukommen sein, da die Aussaat auf Glyzerinkartoffeln wegen der wahrscheinlich vorhandenen anderen Bakterien weniger Aussicht bietet; die Plattenkultur auf Agar hat über die letzteren näheren Aufschluß zu bringen.

Fistelgänge, die bei Erkrankung an Aktinomykose bestehen, entleeren in der Regel keinen richtigen Eiter, sondern eine schleimig-gelatinöse Flüssigkeit, die in bald größerer, bald geringerer Menge die für die Strahlenpilzaffektion bezeichnenden Körnchen mit sich führt.

Vom **Actinomyces hominis** sind zwei Arten bekannt, die eine, die von Bostroem gezüchtete, gedeiht lieber anaerob, die andere, von M. Wolff und J. Israel erhaltene, vorwiegend aerob. Die ersten Kulturen vom Körper weg gehen schwerer an als die bereits an künstliche Nährböden gewöhnten späteren Generationen. Zuckerzusatz erwies sich als günstig. Gelatineverflüssigung tritt nach mehreren Wochen ein.

Während sich mit der erstgenannten Art Tiere nicht krank machen ließen, gelang es Wolff und Israel mit der ihrigen, bei Kaninchen und Meerschweinchen eine Actinomyceserkrankung durch Einspritzung in die Bauchhöhle hervorzurufen. Die Keime des Strahlenpilzes sind außerhalb des Körpers auf Gräsern weit verbreitet, denn Einstoßung von Grannen durch die Haut oder Schleimhaut, z. B. ins Zahnfleisch, kann bei Menschen und natürlich noch viel häufiger bei Rindern, Pferden, Schweinen, Schafen u. s. w. Anlaß zur Erkrankung geben, indem die daran sitzenden Pilzkeime auswachsen und dadurch zur Bildung von Aktinomykomen führen. Am Kiefer kommt es dann zu ganz beträchtlichen Auftreibungen und teilweise zu Einschmelzungen des Knochens, der von schwammigen, breiig gallertigen Gewebsmassen durchwuchert wird. In ihnen erkennt man die erwähnten Körner leicht, nach ihrer Zerdrückung die Strahlenpilzform schon mit stärkerem Trockensystem im ungefärbten Präparat; für Schnitte ist die Gramsche Färbung sehr geeignet. Verwiesen sei auf M. Schlegel, Hdb. d. path. Mikr. 2. 861, sowie auf eine kurze, lehrreiche Darstellung von E. v. Bergmann gelegentlich der Mitteilung eines Falles, bei dem die Infektion durch die äußere Haut erfolgt war (BkW. 04. 1).

Bei der **Madurahand** und dem **Madurafuß** kommen Auftreibungen der Knochen und Zerstörungen der Weichteile unter Bildung schwammigen Gewebes vor. Die in Ostindien heimische Krankheit besteht in einer örtlichen, sich ausbreitenden Entzündung der Hand, oder, was häufiger ist, des Fußes. Sie wird nach R. Boyce bei barfuß gehenden und auf dem Felde arbeitenden Personen meist nach Verletzung beobachtet und ist durch erhebliche Gewebszerstörung und Hyperplasie gekennzeichnet, besonders durch zahlreiche fischrogenähnliche, gelbliche, bisweilen schwarze Pilzdrusen, die sich aus Fistelöffnungen entleeren. Der Pilz kommt in einer gelben und in einer schwarzen

Digitized by Google

Varietät vor. Eine von H. Vincent beschriebene, von einem Kranken in Algier stammende Art bildete im Laufe der Zeit rosafarbene und rote Ansiedlungen und wuchs streng aerob auf Agar-, Heu- und Strohinfus und auf Kartoffeln. Der Erreger ist wahrscheinlich eine Streptothrixart. Näheres s. bei V. Babes, Hdb. d. path. Mikr. 3. 454.

Ohr.

Die einwandfreie Entnahme ist aus leicht erklärlichen Gründen erschwert. Man geht mit einem sterilisierten Trichter möglichst nahe an die Stelle, von der man die Entnahme zu machen beabsichtigt, heran und nimmt entweder mit einer sterilisierten Platinöse etwas weg, oder tupft das Sekret mit einem sterilen Wattebäuschchen ab. Dieses wird entweder sofort auf geeigneten Nährböden in Schälchen ausgestrichen oder ins Laboratorium gesandt; das geschieht am geeignetsten in einem Reagenzröhrchen, auf dessen Boden Chlorcalcium unter einem Wattebausch (zusammen mit dem Röhrchen trocken sterilisiert) liegt und das mit einer Gummikappe verschlossen ist (s. S. 321). Außerdem soll man mindestens zwei Deckgläser oder Objektträger zur färberischen Untersuchung mit dem Sekret bestreichen.

Die Gewinnung von Tubensekret bei unverletztem Trommelfell ohne Beimengung von Nasenschleim ist schwierig. A. Maggiora und G. Gradenigo haben einen sterilen Katheter eingeführt, nachdem seine Oeffnung mit einem sterilisierten Wattepfröpfchen verschlossen war, das sich mittels eines sterilen Fadens herausziehen ließ. Dies geschieht, wenn die Kathetermündung an der Tubenöffnung angelangt ist. Dann wird ein plattes Zelluloidbougie, das allerdings nur durch energisches Reiben mit steriler Watte keimfrei zu machen versucht wird, mehr als 1 cm weit in die Tube eingeführt, mehrere Male darin hin- und herbewegt und nach dem Herausziehen in Gelatine oder Agar abgewaschen, worauf Plattenaussaaten erfolgen (C. 8. 582; 10. 626).

Im äußeren Gehörgang werden sich etwaige Furunkeln und Zellgewebsentzündungen nach Einschneidung unschwer untersuchen lassen; man wird hier die S. 343 aufgeführten Erreger zu erwarten haben. Eine besondere Rolle spielt der Bac. pyocyaneus bei den Erkrankungen der Ohrmuschel und des äußeren Gehörgangs, sowie des Mittelohrs und des Warzenfortsatzes. Darüber handelt im 33. Heft d. Veröffentl. a. d. Gebiete d. Mil.-Sanitätswesens (Berlin bei A. Hirschwald): O. Voß, „Der Bacillus pyocyaneus im Ohr".

Die Paukenhöhle ist im gesunden Zustande beim Menschen keimfrei; H. Preysing stellte dies in 62 Fällen fest (Technik der keimfreien Aufmeißelung des inneren Ohres an der Leiche s. C. 25. 635). Ob von dieser Regel Ausnahmen vorkommen, wie W. Haßlauer behauptet, muß erst noch durch weitere Untersuchungen bekräftigt werden.

Bei Mittelohrentzündungen und ihren Folgezuständen ist vor allem zwischen nicht riechenden und fötiden Sekreten zu unterscheiden. In den nicht riechenden sind bisher hauptsächlich Staphylo-, Strepto- und Pneumokokken teils allein, teils zusammen beschrieben worden, mitunter Friedländersche Kapsel-, Pseudodiphtheriebazillen, Micr. tetragenus, Kolibakterien und bei Typhuskranken Typhusbazillen (H. Prey-

Digitized by Google

sing, C. 25. 635; R. Müller, r. MmW. 05. 922). Im Gefolge von Anginen, Diphtherie, Scharlach können sich die veranlassenden Bakterien hier ansiedeln; Diphtheriebazillen sind zuerst von H. Kossel (DmW. 94. 947), Influenzabazillen von R. Pfeiffer (ZfH. 13. 380) im Eiter des Mittelohrs gefunden worden, Meningokokken von Frohmann (DmW. 97. V. 106); Gonokokken bei Kindern in den ersten Lebenswochen von M. Flesch (BkW. 92. 1234).

Auffallend ist es, daß von keiner Seite der Streptococcus mucosus erwähnt worden ist, bis ihn H. Schottmüller in mehreren Fällen, darunter bei Meningitiden im Gefolge von Otitis media gefunden hat (MmW. 03. 909; 05. 1617). Unter sechzehn von verschiedenen Ohrenkranken stammenden Proben ist er in meinem Institut 2mal festgestellt worden. Nachdem man nun einmal auf ihn aufmerksam geworden ist, wird er öfter nachgewiesen werden, zumal da er nach den Befunden von R. O. Neumann (C. 37. 481) gar nicht so sehr selten im Nasen- und Rachenschleim vorzukommen scheint.

Der **Streptococcus mucosus** unterscheidet sich von den bekannten Streptokokken außer durch seine Kapsel, die er in jungen Kulturen noch deutlich zeigt (Taf. II, Fig. 7), durch die schleimige Beschaffenheit seines Kulturrasens. Er wächst rasch bei Brütschranktemperatur, ist auf Agar bereits nach 6 Stunden reichlich entwickelt, gedeiht auch auf Gelatine, ist aber schon nach wenigen Tagen nicht mehr übertragbar; die schleimige Auflagerung schwindet dann mehr und mehr. Bouillon wird getrübt. Die Maus erliegt der intraperitonealen Injektion binnen 20 Stunden, der Impfung unter die Haut in etwa 2 Tagen. Im Blut und in den Organen findet man meistens einzeln liegende Kokken, weniger häufig Diplokokken, die sich mit der Gramschen Färbung gut differenzieren lassen und etwas an Diplococc. pneum. erinnern. Die Kapsel erscheint dabei leidlich gut in der Gegenfarbe, nach Methylenblaufärbung wird sie rosa und rosafarbene Stellen sind als Reste aufgelöster Bakterien inselförmig im Präparat zu sehen. Auch Meerschweinchen, Ratten und Kaninchen sind empfänglich (R. O. Neumann). Durch Antrocknung von Herzblut an Seidenfäden läßt sich der Infektionsstoff im Exsikkator über $^1/_2$ Jahr lang bewahren (L. Heim, ZfH. 50. 139).

Bei stinkenden Eiterungen können die vorgenannten Bakterien unter Umständen auch gefunden werden, außerdem noch andere, wie Proteusarten, Bac. foetidus u. s. w. A. Uffenheimer berichtet von Spirillen, die er in großer Anzahl im sehr fötiden Sekrete fand. Wie bei allen derartigen Absonderungen soll man auf Anaerobier fahnden; E. Rist beschrieb vier aus chronischen Mittelohrkatarrhen und sieben aus stinkenden Warzenfortsatzeiterungen isolierte Anaerobier (C. 30. 303).

Bei Verdacht auf Tuberkulose des Ohrs ist in der Beurteilung des gefärbten Präparates Vorsicht geboten, denn, wie F. Neufeld nachgewiesen hat, trifft man im Gehörgang säurefeste Bazillen an, wenn auch nicht so häufig wie im Smegma; er unterscheidet eine große S-förmige Art, eine dem echten Tuberkelbazillus ähnliche und eine dritte der diphtheroiden Gruppe angehörige Form. Auch im Eiter

Digitized by Google

von Mittelohrentzündungen wurden säurefeste Bazillen nicht vermißt, doch waren sie deutlich von Tuberkelbazillen zu unterscheiden. Besonders reichlich finden sich diese Pseudotuberkelbazillen in den Cholesteatomen wegen ihres Reichtums an Epithelien (r. C. 35. 655); allerdings schließen sich Cholesteatom und Mittelohrtuberkulose nach Scheibe, sowie Grimmer aus (r. C. 33. 774). Zum Nachweis des Vorhandenseins von Tuberkulose kann der Tierversuch nicht umgangen werden.

Aktinomykose kommt in seltenen Fällen vor. D. Majocchi und E. Zaufal beschrieben je einen Fall, wo die Einwanderung vom Rachen durch die Tube stattgehabt hatte, Rivière und Thévenot sahen die Affektion einmal vom äußern Ohr ausgehen (r. MmW. 04. 1068).

Schimmelpilzerkrankungen kommen etwa in 0,1% nach einer Berliner, in 1,5% nach einer Münchener Statistik vor (r. BkW. 03. 180). Meist waren Aspergillusarten die Erreger, seltener Mucor, selbst ein Pinselschimmel und Soor sind als Otomykosen beobachtet worden.

Auge.

Xerosebazillen, die Kutschbert und E. Neißer in den Schüppchen bei Xerosis der Konjunktiva in großen Mengen gesehen haben (DmW. 84. 21), sind seitdem vielfach auf der normalen Bindehaut gefunden worden. Nach A. Peters fehlten sie in dem auf Glyzerinagar oder Serum ausgestrichenen Sekret der Bindehaut fast niemals, bei verschiedenen Krankheitszuständen waren sie vermehrt, bei Xerose in dichten Massen vorhanden (W. Kruse in C. Flügge, Mikroorg. 2. 476). Wegen ihrer Aehnlichkeit mit den Diphtheriebazillen heißt man sie auch Pseudodiphtheriebazillen. Es gibt verschiedene Arten, die an verschiedenen Stellen gefunden werden; wir haben welche aus Sekret von Cholecystitis purulenta, ein andermal aus einem operativ entfernten Wurmfortsatz gezüchtet, ein drittes Mal anaerob wachsende aus einem fötiden Eiter.

Sie ähneln den Db. in der Form und Lagerung, sind aber oft größer und dicker, wachsen leichter und üppiger und gehen auch auf gewöhnlichem Agar an. Tertsch hat die Unterscheidung mittels hochwertigem agglutinierendem Serum versucht und drei Gruppen von avirulenten diphtherieähnlichen Bakterien des Konjunktivalsacks unterschieden (r. C. 37. 407).

Diphtheriebazillen sind nicht bloß bei kruppöser Bindehautentzündung, sondern auch bei leichten, rasch und glatt verlaufenden Erkrankungen erhalten worden (vergl. W. Uhthoff, BkW. 93. 251). Sie werden durch die M. Neißersche, die Körnchen differenzierende Färbung dadurch erkannt, daß sich diese Körnchen in Kulturen auf Loefflerschem Serum finden (Wichtigkeit des Sechsstundenpräparats s. S. 369); ferner durch ihre Virulenz gegenüber dem Tier, die freilich bei manchen Stämmen sehr gering ist. Man spritzt Meerschweinchen ½ ccm der 24stündigen Bouillonkultur unter die Haut.

Gonokokken sind bekanntlich die Erreger von Augenblennorrhöen insbesondere bei Neugeborenen; sie vermögen unter Umständen diphtherieähnliche, durch Entstehung von Pseudomembranen gekenn-

Digitized by Google

zeichnete Affektionen der Bindehaut zu veranlassen (C. Fraenkel, HR. 8. 313).

Meningokokken können ebenfalls, wie C. Fraenkel (ZfH. 31. 221) bei einem Falle beschrieb, eine eitrige Bindehautentzündung erzeugen; für die Färbung empfahl er das Pick-Jacobsohnsche Farbengemisch mit einer kleinen Abänderung (s. bei Gonokokken).

Pneumokokken begegnet man bei anderen, namentlich bei Kindern vorkommenden Bindehautentzündungen, die, verschieden an Intensität, entweder als leicht abortiv verlaufende oder als schwerere, selbst der Blennorrhoe nahestehende Erkrankungen auftreten. Im Bindehautsack, sagt Th. Axenfeld*), tritt eine Kapsel weniger hervor als im Lungenauswurf, viele erscheinen kurz und rundlich, doch vermisse man niemals lange Formen; in der Kultur pflege die Neigung zur Kettenbildung sehr ausgesprochen zu sein. Dieser Beschreibung zufolge würde es sich um jene S. 354 und 377 f. genannte Zwischenform zwischen Pneumo- und Streptokokken handeln.

Der Diplococc. pneum. wird ferner stets bei Ulcus corneae serpens gefunden, wie zuerst Gasparini, dann fast gleichzeitig W. Uhthoff und Th. Axenfeld nachgewiesen haben. Außerordentlich häufig ist er im Eiter der Dakryocystitis vorhanden und kann dann die Kornea bei eintretender kleiner Verletzung ergreifen (Th. Axenfeld, r. MmW. 04. 286).

Ein Bacillus ulceris corneae wurde als Erreger des infektiösen Randgeschwürs der Hornhaut von zur Nedden beschrieben (r. C. 37. 62).

Staphylokokken und Streptokokken sind als Begleiter verschiedener Infektionen angetroffen worden, von E. Schottelius insbesondere bei Bindehautentzündungen Masernkranker (MmW. 04. 378). Als alleiniger Erreger einer Bindehautenzündung scheinen sie nicht oder höchstens selten in Betracht zu kommen.

Influenzabazillen dagegen kommen als Erreger von Konjunktivitis vor. Zu ihrem Nachweis muß man außer dem gefärbten Präparat Ausstriche auf hämoglobinhaltigen und zum Vergleich auf gewöhnlichen Agar machen und mit der von ersterem erhaltenen verdächtigen Kultur eine Aufschwemmung in die Bauchhöhle von Meerschweinchen spritzen, um auf toxische Wirkung zu prüfen. Bei Influenzabazillen soll sie vorhanden sein, bei den ihnen ähnlichen Koch-Weeksschen Bazillen nicht.

Influenzabazillenähnliche Stäbchen hat L. Müller (Wien) für den Erreger des Trachoms erklärt, eine Ansicht, die sich bei der Nachprüfung seitens A. Luerßen (C. 39. 678) nicht hat bestätigen lassen. Die Ursache des Trachoms ist bis jetzt unbekannt.

Der **Koch-Weekssche Bazillus** ist die Ursache eines epidemisch auftretenden Bindehautkatarrhs. Er wurde zuerst von R. Koch, dann von S. Kartulis (C. 1. 289) in Alexandrien, von J. E. Weeks

*) Th. Axenfeld, Spezielle Bakteriologie des Auges; Handb. d. path. Mikr. 3. 489. Die Abhandlung gibt eine genauere Uebersicht über die bei den Augenkrankheiten gefundenen Mikroorganismen.

Digitized by Google

(C. r. 1. 263) in Neuyork gesehen und von vielen anderen als solcher bestätigt, A i JG—. Die Stäbchen sind etwas länger als die Influenzabazillen, ähnlich den Schweinerotlauf- (oder Mäuseseptikämie)bazillen und sehr reichlich in den Eiterzellen vorhanden (Taf. VI, Fig. 33 und 34). Sie wachsen am besten auf Serumagar und in Serumbouillon, sowie auf Blutagar, sind aber nicht in dem Maße auf das Hämoglobin angewiesen wie die Influenzabazillen. Die Kulturen sind gewöhnlich schon nach wenigen Tagen nicht mehr übertragbar; so lange dies der Fall ist, läßt sich mit ihnen die typische Erkrankung beim Menschen erzeugen; für Tiere sind sie nicht pathogen.

Der **Diplobacillus Morax-Axenfeld** ist der Erreger einer vorwiegend subakut und chronisch auftretenden Bindehautentzündung. Die großen, Taf. VI, Fig. 32 abgebildeten Stäbchen finden sich im graugelblichen, ziemlich zähen Sekret, vornehmlich im inneren Lidwinkel, oft in beträchtlicher Menge, teils frei, teils in Zellen, namentlich Epithelzellen, gelagert und meistens zu zweien. Die von einigen Autoren gesehene Kapsel war wahrscheinlich nicht färbbares Ektoplasma. A i p JG—. Man macht gewöhnlich eine Gramsche Färbung und achtet auf die in der Gegenfarbe (Safranin, Fuchsin) erscheinenden Diplobazillen. Die Züchtung gelingt bloß bei Brüttemperatur und mit Sicherheit nur auf Blutserum oder serumhaltigen Agar, sowie auf Nährböden, denen menschliche Körperflüssigkeit beigemischt ist. Sie verlangen alkalische Reaktion. Auf Loefflers Serum, das in etwa 14 Tagen ganz verflüssigt wird, entstehen am 1. oder 2. Tage Diplo- oder Streptobazillen, dann auffallende und bezeichnende Involutionsformen. Uebertragungen sind bisher nur auf das menschliche Auge gelungen, Tiere verhielten sich ablehnend (nach Th. Axenfeld.)

Streptotricheen sind als die Ursache von halblinsen- bis bohnengroßen Pilzkonkrementen in den Tränenröhrchen erkannt worden. Sie finden sich gewöhnlich zusammen mit Bakterien; ihre Isolierung gelang Th. Axenfeld durch Anwendung der anaerobiotischen Züchtung, einmal erst dadurch, daß die Kulturen 1½ Jahre zugeschmolzen blieben, wonach die gleichzeitig vorhanden gewesenen Kokken abgestorben waren, die Streptothrix noch nicht. Als besten Nährboden gibt zur Nedden Glyzerinpeptonagar an; in der zweiten Generation soll auch Wachstum in Bouillon, Gelatine und Milch erfolgen, nach der fünften aerobes Wachstum, wenn auch nur kümmerlich. Bei Tieren war nur die subkonjunktivale Einbringung von Erfolg, indem dort ein lokaler Eiterherd entstand (r. C. 35. 446). A. Cahn läßt die Möglichkeit zu, daß Konkremente von verschiedenen Streptothrixarten erzeugt werden können (r. C. 35. 446).

Verschiedene Bakterien sind bei Keratomalacie gefunden worden (Staphylo-, Streptokokken, Fadenbakterien, Kapselbazillen u. a., aber keine Pneumokokken).

In dem Bakteriengemisch, wie es nach Verletzungen des Augeninnern besonders mit schmutzigen, mit Erdkeimen behafteten Dingen vorkommt, sind den Untersuchern unter anderen sporenbil-

Digitized by Google

dende Stäbchen aus der Gruppe der Heubazillen oder ähnliche aufgefallen (s. B. Kayser, C. 33. 241). Durch einen Heugabelstich war gleichzeitig eine Tetanusinfektion mit tödlichem Ausgange gesetzt worden (J. N. Oeller, r. C. 37. 410).

Schimmelpilzerkrankungen kommen in vereinzelten Fällen an der Hornhaut vor; es handelt sich gewöhnlich um Aspergillusmykosen.

Mund.

In der Mundhöhle des Gesunden, auf der Zunge, am Zahnfleischrand und den an ihm haftenden Belägen und Inkrustationen findet sich eine Flora, deren Gesamtbild insofern etwas gemeinsames hat, als man fast regelmäßig gewisse Kokken, Stäbchen, Spirillen und Spirochäten findet. Dem mikroskopischen Befund entspricht die Ernte aus einer Aussaat auf Agarplatten nicht, man wird nach sehr vielen dort gesehenen Kleinwesen umsonst suchen. Zählungen der züchtbaren Mundkeime nach Aussaat von 0,1 ccm einer nachher bestimmten Menge Spülwassers sind mehrfach vorgenommen worden, so von C. Roese (ZfH. 36. 161). Auf Agarplatten findet man hauptsächlich Kolonien von Stäbchen und Kettenkokken.

W. D. Miller gab zu einem Tropfen mit Milchsäure schwach angesäuerter Jodjodkaliumlösung etwas vom weißen Zahnbelag und unterschied bei der mikroskopischen Untersuchung zwischen solchen Mikroorganismen, die eine sehr schwach gelbliche bis gelbe Farbe und solchen, die eine deutlich blau-violette Färbung annahmen. Unter den ersteren, den gelben, bezeichnete er als Leptothrix innominata die unregelmäßigen, vorspringenden, ungegliederten fadenartigen Mikroorganismen, blau-violett gefärbt waren Ketten von Kokken: Jodococcus vaginatus und dicke Bazillen: Bacillus maximus buccalis. Von Spirillen züchtete er einen wahrscheinlich dem Vibrio proteus (Prior-Finkler) ähnlichen Vibrio und ein auf Gelatine sehr langsam wachsendes halbkreisförmiges Stäbchen, den ε-Bazillus. Von nicht züchtbaren hierher gehörigen Arten begegnet man unter anderem im Belage des geröteten Zahnfleischbrandes dem Spirillum sputigenum und der Spirochaete dentium, die nach der Färbung insbesondere mit unverdünntem Karbolfuchsin aus kleinsten perlschnurartig aneinander gereihten Pünktchen besteht, zwischen denen hellere Stellen liegen (s. Taf. IV, Fig. 25). Unter den verschiedenen anderen Arten sind spießförmige oder fusiforme Bazillen zu bemerken.

Zähne. Wie die Zahnkaries zustande kommt, ist nicht sicher festgestellt, dagegen ist in die Ursache der in ihrem Gefolge auftretenden Pulpitis durch die unter meiner Leitung ausgeführten Untersuchungen von O. Sieberth (Diss. Erlangen 1900) ein besserer Einblick gewonnen worden.

Die keimfreie Bloßlegung und Verarbeitung von Pulpen frisch ausgezogener Zähne ist durchaus nicht schwierig. Der mit einem sterilen Tuch getrocknete Zahn wird mit einer Zwickzange gespalten, die so beschaffen sein muß, daß ihre Schneiden auch im geschlossenen Zustand einen Raum zwischen sich lassen. Einwurzelige Zähne werden

Digitized by Google

in der Längsrichtung gesprengt, bei mehrwurzeligen wird erst die Krone gespalten, das Impfmaterial der Kronenpulpa entnommen und nachher mit den Wurzeln ebenso verfahren. Um zu verhindern, daß beim Spalten einzelne Bruchstücke abfliegen, empfiehlt es sich, den vorderen Teil der Zwickzange, der den Zahn bereits gefaßt hält, mit steriler Gaze beutelförmig zu umgeben. Das Zahnstück, das die freigelegte Pulpa enthält, legt man in ein Schälchen, mit der Pulpaseite nach oben, und hält es mit einer Pinzette; nun wird mit einer anderen spitzen sterilen Pinzette oder mit einem Platindraht das Pulpastück oder ein Teil von ihm herausgenommen und auf den Nährboden übertragen. Es wurden je 2 Agarschälchen, 2 Bouillonröhrchen und zur weiteren Kontrolle Gelatineplatten geimpft, hierauf Ausstriche auf Objektträger zur Färbung (auch nach Gram) gemacht und der Rest einer Maus unter die Haut geimpft.

Mit diesem Verfahren wurde im Gegensatze zu früheren Untersuchern, die die verschiedensten Stäbchen, selbst Kartoffelbazillen als Erreger beschrieben haben, ein recht einheitlicher Befund erhoben. In fast allen nicht gangränösen Pulpen wurden teils lange und mittellange Streptokokken gefunden, die die Bouillon klar ließen, teils kurze, die sie trübten. In den Kulturen aus 134 Pulpitiden gingen 120mal ausschließlich Streptokokken an, 4mal waren neben Streptokokken Mikrokokken oder Sarzinen (diese bei einem Pulpapolypen) vorhanden und 10mal wuchs überhaupt nichts (C. 28. 302). Bei gangränöser Pulpitis, von der Taf. XI, Fig. 64 einen mikroskopischen Befund zeigt, sind zweifellos Anaerobier mit im Spiel. Genauere Untersuchungen stehen darüber noch aus. A. Rodella machte anaerobe Bazillen hauptsächlich für die Entstehung der Karies verantwortlich (AfH. 53. 329).

Daß die Einwanderung der Streptokokken vom kariösen durch das noch scheinbar gesunde Zahnbein nach der Pulpa erfolgt, hat O. Sieberth durch Untersuchung des Bohrstaubes von sechzehn erkrankten, frisch ausgezogenen Zähnen erwiesen; nachdem die Zone der äußerlich anhaftenden Mundbewohner überschritten war, fanden sich im Gewebe nur noch Streptokokken und zwar nicht bloß in den tiefen Schichten des erweichten Dentins, sondern auch in den tiefsten des gesunden Dentins; aus dem harten Gewebe gingen die kleinen Streptokokkenkolonien auf.

Die Spirochaete dentium sah Miller im Eiter der Pulpa eines kariösen Zahns mikroskopisch in großer Menge neben vereinzelten Stäbchen und Kokken. In der Kultur ging nichts an. Ueber Geruch und Anaerobier ist nichts mitgeteilt (DmW. 06. 348).

Tuberkelbazillen können in seltenen Fällen durch den kariösen Zahn eindringen, wie K. Partsch bei einem Fall von tuberkulöser Periodontitis dargelegt hat (DmW. 04. 1428), ferner, wie derselbe Autor zeigte, auch Aktinomykose beim Menschen (WkW. 93. 97).

Zahlreiche, stecknadelkopfgroße, schwefelgelbe Körnchen wie bei Aktinomykose beobachteten Karg und G. Schmorl in einem vom Mahlzahn ausgehenden Unterkieferabszeß; außer den Leukozyten fand sich in den Körnchen ein dichtes Netzwerk untereinander verflochtener verschieden langer Fäden mit deutlich dichotomer Ver-

Digitized by Google

zweigung, eine Cladothrixart (Atlas der pathol. Gewebelehre 1893, Taf. 17).

Zungenbeläge enthalten ein buntes Durcheinander von Kleinwesen. Speziell bei der schwarzen Zunge sind in dem schwarzen Fleck von Ciaglinski und Hewelke (r. C. 14. 209), sowie von J. Sendziak (r. C. 16. 870) Mucor niger oder ihm wenigstens sehr ähnliche Pilze gefunden worden. Schmiegelow züchtete schwarz gefärbte Pilze, die er teils als Trichosporum chartaceum, teils als Streptothrix bestimmte (r. C. f. d. med. Wiss. 97. 123).

Soor ist durch die S. 315 genannten Pilze bedingt. Sie können auch weiter in den Körper eindringen, in seltenen Fällen sogar zur Pyämie führen. Meist sind bei der metastatischen Soorinfektion andere Krankheitserreger nebenbei beobachtet worden. E. v. Hibler beschrieb einen Fall von Pyämie, bei dem der Eiter des metastatischen Kleinhirnabszesses die Soorpilze in Reinkultur enthielt (C. 36. 505).

Stomatitis. Bei den verschiedenen Erkrankungen, sei es Skorbut, sei es Stom. aphthosa oder ulcerosa, haben die Untersuchungen keine Klarheit über die Aetiologie gebracht; bei der Aphthenseuche sind Staphylo-, Streptokokken, Friedländersche Bazillen, auch gasbildende Anaerobier gezüchtet worden, ohne daß man ihnen eine ursächliche Bedeutung beimessen konnte. Gonorrhoische Stomatitis ist, beim Erwachsenen wenigstens, sehr selten (s. Jürgens, BkW. 04. 629).

Bei **Maul- und Klauenseuche** sind dagegen, obwohl der Erreger nicht ermittelt werden konnte, interessante Studien gemacht worden. Die vorgekommenen Uebertragungen auf Menschen haben Bussenius und Siegel in der Zeitschr. f. klin. Med. zusammengestellt (s. DmW. 96. 799).

Die Erreger sind bis jetzt noch nicht gesehen worden. Fortgesetzte Nachforschungen über die Aetiologie und Immunisierung, die F. Loeffler mit P. Frosch und Uhlenhuth angestellt hat, haben ergeben, daß der Erreger kleiner sein muß als die kleinsten Bakterien, da er im Gegensatz zu diesen durchs Filter geht; er gehört also zu den sogenannten ultramikroskopischen Kleinwesen.

Die Infektion gelingt durch die Einführung der (filtrierten) Lymphe in die Blutbahn, Muskeln, Bauchhöhle und in den Verdauungstraktus, dagegen ist die kutane und subkutane Impfung ganz unzuverlässig. Das Virus geht durch Eintrocknung schnell zu Grunde, hält sich aber bei niedriger Temperatur feucht aufbewahrt monatelang lebend; es wird durch 5 Minuten lange Erwärmung auf 60° (in der Milch auf 85°) unwirksam gemacht. Die Fortzüchtung glückte ausschließlich im Tierkörper, am besten im Ferkel. Der Impfstoff läßt sich quantitativ dosieren. Nicht tödliche Infektionen haben nach 3 Wochen Immunität zur Folge, das Blut ist im stande, die Wirkung gewisser Mengen von Lymphe aufzuheben. Die passive Immunisierung hat sich geeigneter als die aktive erwiesen. Durch Vorbehandlung von Pferden wurde ein Serum erhalten, das Schweinen und Schafen vorzüglichen Schutz gewährte, nicht aber Rindern; ihre Immunisierung gelang mit dem Serum energisch vorbehandelter Rinder. Die Grenzwerte des Pferdeserums sind an Ferkeln, des Rinderserums an Rindern austitriert worden (F. Loeffler, DmW. 03. 686).

Digitized by Google

Atmungsorgane.

Nase.

Zur Entnahme von Sekret geht man entweder unter Führung des Spiegels vom Rachen aus ein und streicht die Muscheln, den Boden oder die Scheidewand der Nase ab oder man holt einfach von vorne mit der Platinöse etwas heraus. Bei Kindern wischte R. O. Neumann die Nasenhöhle mit einem sterilisierten Wattebausch aus, nachdem die äußere Oeffnung vorher innen und außen mit Watte gereinigt worden war, bei Erwachsenen ließ er nach vorheriger Reinigung der Oeffnung ein Nasenloch verschließen und das Sekret auf eine untergehaltene Kulturschale ausschnauben, bei reichlichem Sekret erst in eine leere Schale (ZfH. 40. 33). Endlich kann man den ausgeschneuzten Schleim verwenden, unter Umständen genügt schon die Auffangung in einem reinen Taschentuch. Unter den von R. O. Neumann in normalen wie in erkrankten Nasen gefundenen Bakterien standen Pseudodiphtheriebazillen an Häufigkeit obenan, demnächst Staphylokokken und zwar meistens weiße. Von den weniger häufigen interessieren der Diplococcus lanceolatus, die Friedländerschen Bazillen, Streptokokken und die in 8 % der Fälle nur in affizierten Nasen festgestellten Diphtheriebazillen. Streptococcus mucosus ist im ganzen in 8 Fällen in katarrhalischen Speichelproben, in verdächtigem Diphtheriematerial, im Sputum, im Mandelbelag, im Abszeßeiter, bei Schnupfen und im normalen Sekret isoliert worden (C. 37. 481). Eine zusammenfassende Uebersicht über die Mikroorganismen der gesunden und kranken Nasenhöhle und Nasennebenhöhlen gab W. Haßlauer, C. 37. 1.

Tuberkelbazillen konnte J. Straus bei Personen in der Umgebung von Phthisikern in der Nase nachweisen, nachdem er die zum Auswischen benutzten sterilen Tupfer ausgelaugt und die Flüssigkeit Meerschweinchen eingespritzt hatte. W. Haßlauer bekam bei der färberischen Untersuchung von 84 Soldaten, meist Oekonomiehandwerkern, kein positives Ergebnis (C. 33. 47). Säurefeste Bazillen wies J. Karlinski bei einem mit Nasengeschwür behafteten Syphilitiker nach (C. 29. 521) und Alexander bei einer Reihe von Ozänafällen in den derben trockenen Krusten (r. DmW. 03. Ver. 5).

Schnupfen kann die verschiedensten Ursachen haben. Die hauptsächlichsten Erreger von Rhinitis sind Influenzabazillen, Diphtheriebazillen, Meningokokken, wahrscheinlich auch Micrococc. catarrhalis, der wegen seiner Aehnlichkeit mit letzteren wohl manchmal schon mit ihm verwechselt worden ist. Sie alle können auf die Nase lokalisiert bleiben, namentlich ist dies außer bei Meningokokken bei den Diphtheriebazillen der Fall. Diese sind bei mehr oder weniger heftigen Erkrankungen an Rhinitis fibrinosa in der Mehrzahl der Fälle festgestellt worden (R. Abel, DmW. 94. 693; H. Reichenbach, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 38 u. a.); Gerber berichtet von 72,5 %, während fibrinöse Entzündungen des Halses in nur 44 % diphtheritischer Natur waren (BkW. 05. 969). R. O. Neumann mahnte deshalb, bei zweifelhaften

Digitized by Google

Fällen von Schnupfen, wenn irgend angängig, auf Diphtheriebazillen zu untersuchen (C. 31. 33).

Bei **Ozäna** wurde von verschiedenen Untersuchern zuerst von B. Loewenberg, später insbesondere von R. Abel (ZfH. 21. 89) u. a. regelmäßig ein dem Friedländerschen sehr ähnlicher Bazillus gefunden; die stinkende Beschaffenheit des Sekrets wird durch andere Bakterien bedingt. Die Frühstadien der Krankheit lassen sich durch den Nachweis des Bac. ozänae richtig erkennen, man muß nur auch das Kulturverfahren heranziehen, bei negativem Ergebnis und bestehendem Verdachte wiederholentlich; man muß oft an mehreren Tagen Nasenspülungen machen, um die Borken zu entfernen, ehe die Bazillen der Rhinitis atrophicans nachweisbar werden. De Simoni unterscheidet von der Ozäna die Rhinitis foetida, bei der neben selteneren anderen ein Bacillus pyogenes foetidus (A m n l JG —) gefunden wird. Es ist ein koliähnliches, zuckervergärendes Stäbchen (r. C. 37. 64). Ein Sammelreferat über die Aetiologie der Ozäna hat W. Haßlauer (r. C. 34. 353) geschrieben.

Beim **Rhinosklerom** hat zuerst v. Frisch 1882 ein ebenfalls dem Friedländerschen ähnliches Stäbchen regelmäßig gesehen, das angesichts seiner eigentümlichen Lagerung in den größeren Zellen als Rhinosklerombazillus bezeichnet wird.

Die **Lepra** kann durch Nasensekret verbreitet werden. R. Koch und später G. Sticker fanden darin die typischen Bazillen bei den meisten Kranken. Das Sekret kann schleimig, eitrig oder eigentümlich leimartig sein; das letztere ist am bazillenreichsten, es enthält die „Bazillenkugeln", während im schleimigen oder eitrigen Ausfluß meist nur kleinere Haufen, Züge oder Paare von Bazillen vorhanden sind (G. Sticker, MmW. 96. 1063).

Schimmelpilzansiedlungen in der Nase sind wenig beobachtet worden. P. Schubert fand in 2 Fällen den Aspergillus fumigatus, in einem anderen einen Fadenpilz, den Ferd. Cohn als Isaria (Botrytis) bassiana bestimmte (BkW. 89. 856).

Die Nebenhöhlen der Nase sind im normalen Zustande bei Mensch und Tier keimfrei (s. F. Törne, C. 33. 250). Bei Erkrankungen ihrer Umgebung können auch sie affiziert werden, insbesondere kommt dies bei Diphtherie vor, am häufigsten und schwersten sind die Keilbein- und Oberkieferhöhlen befallen; meist handelt es sich um Mischinfektionen (r. C. 32. 554).

Mandeln und Rachen.

Die Diphtherie und ihre Diagnose. Ob ein verdächtiger Belag der Bretonneauschen Diphtherie angehört oder nicht, wird durch die bakteriologische Untersuchung entschieden. Vermag nun zwar der Kliniker sehr oft auch ohne sie die richtige Diagnose zu stellen, so bleibt doch der bakteriologischen Untersuchung die Entscheidung vorbehalten, wann ein Erkrankter oder ein Bazillenträger ohne Gefahr für seine Umgebung wieder in den freien Verkehr gelassen werden kann.

Digitized by Google

Das soll nur geschehen, wenn eine mindestens 1- bis 2mal wiederholte Untersuchung die Abwesenheit von Diphtheriebazillen festgestellt hat.

Zur Entnahme gibt es Tupfer aus Watte, die in Reagenzröhrchen sterilisiert hinausgegeben und nach Abstreichung der verdächtigen Stelle in dem zugehörigen Holzgefäß ins bakteriologische Laboratorium gesandt werden (Fig. 206).

Im Notfalle lassen sie sich durch ein Holzstäbchen oder eine sterilisierte Pinzette, um die Watte gewickelt ist, ersetzen. Ein Wattebausch wird aus dem Innern eines Pakets mit einer sterilen Pinzette herausgezogen und mit einer anderen sterilen Pinzette um die beiden Faßarme der ersten herumgewickelt. Die Sterilisierung einer Pinzette durch Auskochung in Sodalösung zeigt Fig. 207.

Fig. 206.

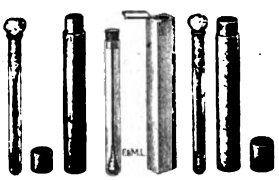


Fig. 207.

Nach dem Abstreichen wird der Wattepfropf mit der vorigen Pinzette abgenommen, in eine Papierkapsel gelegt und im Umschlag nebst den nötigen Bemerkungen an das Institut gesandt. Frische, reine Schreibpapiere, ungebrauchte Papierkapseln enthalten keine Keime, wenigstens keine solchen, von denen man eine Störung befürchten müßte. E. v. Esmarch gab sterilisierte Schwämmchen von etwa 9 mm Dchm. und 1 mm Dicke in Papierkapseln hinaus; sie werden mit einer sterilen Pinzette gefaßt, leicht gegen die verdächtige Stelle gedrückt oder ohne zu scheuern darüber gewischt und an die Untersuchungsstelle geschickt.

Ungebärdigen Kindern hält man die Nase zu, dann öffnen sie unwillkürlich den Mund.

Vor der Entnahme dürfen beim Kranken keine Desinfektionsmittel angewendet werden oder es müssen mehrere Stunden nach dem Pinseln oder Gurgeln verstrichen sein.

Verarbeitung an der Untersuchungsstelle nach M. Neißer (ZfH. 24. 443 und HR. 03. 705), sowie M. Neißer und B. Heymann (Klin. Jahrb. 7. 1):

1. a) der eingesandte Tupfer wird mehrmals über Loefflersches Serum ausgestrichen.

Einstellung der Proben in den Brütschrank bei 34 bis 35 °.

b) Der Tupfer wird danach auf 2 Objektträger ausgestrichen. Färbung des einen Präparates mit verdünntem Farbstoff, z. B. verd. Karbolfuchsin 1 : 10 aq. dest.

Behandlung des anderen mit der Neißerschen Doppelfärbung.

Digitized by Google

2. Nach 6stündigem Aufenthalt der Kulturen bei 34 bis 35°: Abklatsch von den Schälchen (oder Abstrich von den Röhrchen). Färbung mit verd. Fuchsin.

3. Nach 12- bis 20stündigem Aufenthalt der Kulturen bei 34 bis 35°: Abstrich von der Kultur im Röhrchen oder Schälchen (hier kein Abklatsch) und Färbung mit:

a) verd. Fuchsin

b) der Neißerschen Doppelfärbung.

Zu 1a. Die Ausstriche auf den Nährboden werden zuerst, vor denjenigen für die Färbung gemacht;

bei Röhrchen: Der Rachenwischer wird in das Kondenswasser getaucht und vorsichtig, ohne die Masse einzureißen, über die Oberfläche geführt; dasselbe wird in einem zweiten und dritten Röhrchen gemacht;

bei Schälchen: Der Rachenwischer wird 4- bis 6mal über den Nährboden ausgestrichen, allenfalls auch noch in einem zweiten Schälchen. Man spart also Material, kann Klatschpräparate machen (wichtig nach 6 Stunden) und die Kolonien bei schwacher Vergrößerung mustern. Ein Nachteil der Schälchen ist, daß ihr Rand von Schwitzwasser feucht und darum nach Einleitung der Kultur infektionsverdächtig ist. Man wähle Schälchen mit nicht zu niedriger Wand und sei vorsichtig beim Anfassen (s. S. 125, Fig. 125 und 126). Insbesondere gebe man sie nicht Anfängern in die Hände.

Zu 1b. Wenn Häufchen typisch gelagerter und typisch gestalteter Bazillen (nicht bloß einzelne Exemplare) vorliegen, ist die Wahrscheinlichkeitsdiagnose möglich. Es ist aber noch das Kulturergebnis abzuwarten.

Die Neißersche Doppelfärbung mit Methylenblau-Kristallviolett einerseits und Chrysoidin (oder Bismarckbraun) anderseits:

I.	Lösung A.	Lösung B.
	Methylenblaupulver 1,0	Kristallviolett (Höchst) 1,0
	Alkohol 20,0	Alkohol 10,0
	Aq. dest. 1000,0	Aq. dest. 300,0
	Ac. acet. glac. 50,0.	

Von Lösung A 2 Teile, dazu von Lösung B 1 Teil.

Mit der Mischung 1 Sekunde färben, mit Wasser abspülen, sofort nachfärben mit:

II. Chrysoidin 1,0 in 300,0 heißen dest. Wassers gelöst und filtriert.

Färbungsdauer etwa 3 Sekunden. Abspülen mit Wasser. R. Scheller rät, beide Farbstoffe je 10 bis 15 Sekunden, unter Umständen noch länger, wirken zu lassen (C. 40. 1).

Deckglaspräparate sollen nicht in Wasser, sondern in Oel oder Balsam eingeschlossen betrachtet werden.

Noch bessere Resultate wollen J. M. Blumenthal und M. Lipskerow mit einer kleinen Modifikation (Chrysoidin) der Methode von Ljubinsky erzielt haben (C. 38. 359):

I. Pyoktanin (E. Merck) 0,25
5proz. Eisessiglösung 100,0
½ bis 2 Minuten wirken lassen. Abspülen mit gewöhnlichem Wasser. Nachfärben mit:

Digitized by Google

II. 1promill. Lösung von Vesuvin ½ Minute
oder 1proz. Lösung von Chrysoidin.

Zu 2. Nach 6 Stunden ein Klatschpräparat von der Serumplatte zu machen, ist aus äußeren Gründen nicht immer möglich. Es ist aber nach M. Neißer das wichtigste Präparat und bei Augendiphtherie ganz unerläßlich.

„Haufen typisch gelagerter und typisch gestalteter Bazillen sind beweisend und berechtigen zur Diagnose; einzelne Bazillen beweisen nichts. Ein negatives Urteil ist nur dann und auch nur da mit großer Vorsicht zu stellen, wenn ausschließlich Kokken gefunden wurden. Im positiven wie im negativen Falle ist eine spätere Untersuchung, also nach etwa 16 bis 20 Stunden notwendig."

Pseudodiphtheriebazillen haben um diese Zeit nicht die typische Lagerung der Db., und Xerosebazillen sind überhaupt erst gering gewachsen oder die Stäbchen zeigen bereits Auftreibungen.

Zu 3. Die Zeit von 12 bis 20 Stunden muß eingehalten werden. Während dieser Frist wird ein Präparat mit verd. Fuchsin, ein zweites mit der Doppelfärbung behandelt.

Zur Unterstützung ist manchmal ein hängender Tropfen oder die Gramfärbung heranzuziehen.

Typisch gefärbte und typisch gelagerte und gestaltete Bazillen sind beweisend, ebenso wie ihr Fehlen.

Pseudodiphtheriebazillen und die meisten Xerosestämme verhalten sich um diese Zeit der Doppelfärbung gegenüber negativ, höchstens ganz vereinzelte Bazillen nehmen die Färbung an: eine Verwechslung mit Db. ist unmöglich. Bei Differenzen zwischen dem Ausfall der verschiedenen Färbemethoden ist eine nochmalige Untersuchung notwendig. Bei irgendwelchen Zweifeln seitens des Arztes ist sofort um eine zweite Untersuchung zu bitten. Das Urteil lautet entweder: Db. wurden gefunden, oder: Db. wurden nicht gefunden. Ehe das letztere abgegeben wird, soll die Untersuchung auf zwei voneinander unabhängige Untersucher verteilt werden, die sich so gegenseitig kontrollieren.

Die **Diphtheriebazillen** sind von F. Loeffler gezüchtet und als die Erreger der Krankheit festgestellt worden (KGA. Mittlg. 2. 421), nachdem sie 1871 von M. J. Oertel gesehen und 1883 von E. Klebs genauer beschrieben worden waren. Sie sind nicht bloß in den diphtheritischen Belägen und in den Kruppmembranen vorhanden, sondern werden auch in der Umgebung des Herdes, an scheinbar gesunden Stellen gefunden, selbst wochenlang nach Ablauf der klinischen Erscheinungen, sowie auf der Schleimhaut von gesunden Personen der Umgebung des Kranken, die dann als sogenannte Bazillenträger Vermittler der Infektion sein können.

Die Stäbchen sind etwa 2 bis 4 μ lang und etwa 0,5 μ breit. Man hat einen Unterschied zwischen langen Formen von 4 μ und darüber, mittellangen von 2 bis 4 μ und kurzen von 2 μ und weniger machen wollen und auf Grund der Größenverhältnisse sogar verschiedene Arten oder wenigstens Varietäten unterschieden; die langen sollen den echten Db. entsprechen, die kurzen und mittellangen Pseudodiphtheriebazillen sein. Diese namentlich in Frankreich vertretene Ansicht hat

Digitized by Google

sich jedoch als nicht stichhaltig erwiesen; andere sprachen gerade den kürzeren Formen eine größere Virulenz zu. Die verschiedene Größe ist durch äußere Umstände bedingt, durch die Zusammensetzung des Nährbodens, seine Konsistenz, die Zahl der nebeneinander gewachsenen Kolonien, die Temperatur, das Alter der Kultur u. a. (S. J. Glücksmann, ZfH. 26. 417).

Die Stäbchen (Fig. 208 und Taf. V, Fig. 26) sind nicht selten leicht gebogen und haben oft Auftreibungen entweder knopf- oder keulenförmig an einem Ende oder hantelförmig an beiden Enden oder spindelförmig in der Mitte. Die Spindelform wird meist durch zwei mit den dicken Enden aneinanderstoßende Stäbchen hervorgerufen. Zwei oder mehrere Stäbchen liegen oft palisadenartig parallel oder finger- oder radspeichenförmig auseinanderstrebend. In älteren Kulturen begegnet man Involutionsformen von Keil- oder Keulen-, Kegelkeil- oder Flaschenform (s. z. B. M. Meyerhof, AfH. 33. 1). Unter gewissen Bedingungen entstehen Knospen und Verzweigungen von T-, H- oder Y-Form; sie sind zuerst von C. Fraenkel auf Loefflers Serum festgestellt und auf der Oberfläche oder in Einschnitten von hartgekochtem Hühnereiweiß in größerem Maße gezüchtet worden (HR. 95. 349).

Fig. 208.

Die Db. nehmen die Farben gut, aber nicht immer in allen Teilen gleichmäßig an. Abgesehen von den mit der M. Neißerschen Färbung darstellbaren Babes-Ernstschen Körperchen wechseln namentlich in größeren, keulenförmigen Stäbchen helle und sattgefärbte Stellen querverlaufend ab. Die stärker färbbaren Bestandteile behalten die Farbe bei der Gramschen Behandlung, wenn man vorsichtig mit Alkohol spült (Taf. V, Fig. 27).

Die Widerstandsfähigkeit gegen Chemikalien ist gering. Durch 5proz. Phenol- oder 1promill. Sublimatlösung werden gewachsene Kulturen in 20 Sekunden getötet (F. Loeffler, DmW. 91. 353), von Wasserstoffsuperoxyd genügt der Zusatz einiger Tropfen zu Bouillonkulturen (M. Beck, Hdb. d. path. Mikr. 2. 779). In Wasser suspendierte Keime werden durch Sonnenlicht in 2 bis 8 Stunden zum Absterben gebracht (Gehrke, r. C. 25. 198). Trocknung halten sie wochen- bis monatelang aus, im Exsikkator selbst über 1 Jahr.

Die Züchtung gelingt nicht unter 20°, am geeignetsten bei 34 bis 35° auf Loefflerschem Serum, auch auf Serumagar und auf Deyckes Pepsintrypsinagar (s. S. 104); gewöhnlicher Agar eignet sich nicht für die erste Kultur vom Körper weg, aber zur Fortzüchtung, ebenso Bouillon. Glyzerinzusatz ist nach M. Beck entbehrlich. Das Aussehen von 1 Tag alten Kolonien auf Glyzerinagar zeigt Taf. V, Fig. 28. Bouillon wird unter Bildung eines Bodensatzes trüb und, wie E. Roux und A. Yersin zuerst gezeigt haben, sauer, nach einiger Zeit wieder alkalisch. Die anfängliche Säurebildung ist größer als bei ähnlichen, z. B. Pseudodiphtheriebazillen, beträgt am ersten Tag etwa 0,6 bis 1,0, am zweiten etwa 1,0 bis 1,6 $^1/_{10}$-Normallauge und wurde vor der Einführung der Neißerschen Färbung zur Unterscheidung herangezogen (s. M. Kober, ZfH. 31. 440; Th. Madsen, ZfH. 26. 157). Sie ist außerdem deshalb von Bedeutung, weil sie die Giftbildung, die man zur Gewinnung eines hochwertigen Toxins haben will, beeinträchtigt. In Milch vermehren sich die Db., ohne sie zur Gerinnung zu bringen, nach M. Schottelius namentlich in der rohen, lebens-

Digitized by Google

warmen Milch (C. 20. 897). Auf eiweißfreier Nährlösung gelang es N. Uschinsky (nur bei einem Stamm) Kulturen zu erzielen, die sich bei Zusatz von Spuren Eisen durch ihre gesteigerte Toxinbildung auszeichneten (C. 21. 146).

Der Tierversuch wird heute zur Bestimmung der Echtheit einer Kultur seltener angewendet, nachdem die färberischen und kulturellen Merkmale dazu ausreichend sind, zumal da die Virulenz sehr schwankt und selbst bei frisch aus Belägen gewonnenen Stämmen recht gering sein kann. Von den gebräuchlichen Tieren sind Mäuse unempfänglich, junge Kaninchen verwendbar, am geeignetsten sind Meerschweinchen, denen man 1 ccm oder Bruchteile von 1 ccm einer 24stündigen Bouillonkultur einspritzt. Die Einspritzung soll nach P. Ehrlich (Klin. Jhrb. 6. 7) in der Gegend des Schwertfortsatzes erfolgen und die Kanüle soll dabei medial und rein oberflächlich verschoben werden. Dadurch wird die Injektion unter Vermeidung der Muskeln rein subkutan und die charakteristischen Schwellungen treten leichter ein. Es bildet sich an der Impfstelle eine sulzige, ödematöse, blutig gefärbte Schwellung des Unterhautbindegewebes und die Tiere sterben, wenn die Kultur virulent, bezw. die Gabe groß genug gewesen war, binnen 2 bis 4 Tagen unter den Erscheinungen einer Vergiftung; Bakterien findet man ähnlich wie beim Menschen in den inneren Organen nur selten. Im subkutanen Gewebe der Impfstelle ist ein weit verbreitetes hämorrhagisches Oedem, in der Brust- und Bauchhöhle ein seröses, manchmal blutiges Exsudat; charakteristisch sind die stark geröteten und geschwollenen Nebennieren. Pseudodiphtheriebazillen sind für Meerschweinchen nicht pathogen.

Zur Unterscheidung ist die Gewinnung eines Serums mit agglutinierenden Eigenschaften versucht worden, aber es ist nicht gelungen, ein gegen alle Stämme wirksames zu erhalten (s. A. Wassermann, DmW. 02. 785; A. Lipstein, C. 34. 421).

Eine hämolytische Wirkung der Db. fand C. Lubenau, später J. Schwoner, während sie bei Pseudodiphtheriebazillen vermißt wurde. Aber selbst von echten Db. erzeugten nicht alle Stämme Hämolysin, sondern hauptsächlich nur die von schweren septischen Diphtherien herrührenden Kulturen (C. 35. 608).

Die Scharlachdiphtherie, die klinisch der Bretonneauschen D. sehr ähnlich sein kann, hat ätiologisch nichts mit dieser gemein. Wie bei einfacher lakunärer Angina werden bei ihr vorwiegend Streptokokken nachgewiesen; solche findet man überhaupt an entzündeten Stellen des Mundes und Rachens und bei Prozessen, die von da ausgehen; sie begleiten in gleicher Weise die diphtheritische Erkrankung und können sie in ungünstiger Weise komplizieren; die Virulenz der Db. soll durch ihren Einfluß erhöht werden. P. Hilbert hat bei 100 gesunden oder wenigstens nicht mandelkranken Personen stets langkettige Streptokokken in der Weise erhalten, daß er den abgestrichenen Schleim in Bouillon übertrug und eine zweite Verdünnung in einem Bouillonröhrchen anlegte. Die so erhaltenen Streptokokken unterschieden sich weder im Wachstum noch in der Virulenz für Mäuse voneinander (ZfH. 31. 381). In der gesunden Mundhöhle begegnet man übrigens Streptokokken, die sich durch ihre etwas üppigeren

Digitized by Google

Kolonien oder durch eine auffallende Länge ihrer Ketten von den pyogenen unterscheiden.

Die **Plaut-Vincentsche Angina** ist eine Form von ulcero-membranöser Angina mit gutartigem, aber langsamem Verlauf, die dadurch ausgezeichnet ist, daß sich die sogenannten **fusiformen Bazillen** zusammen mit Spirochäten finden. Während in dem Ausstrich aus einem Mandelpfropf (Taf. XI, Fig. 63) die Spirochäten weitaus vorherrschen und nur einige wenige spindelförmige große Stäbchen vorhanden sind, ist dies bei der genannten Krankheit umgekehrt, ja in der Tiefe der exstirpierten erkrankten Tonsillen oder Wunden ist nach H. Vincent der Bacillus fusiformis allein vorhanden. Er liegt dort nach den Beschreibungen verschiedener Autoren in radiären Büscheln. Der Befund ist gleich dem beim Hospitalbrand (H. Vincent, AP. 96. 488).

H. C. Plaut hat zuerst über fünf derartige Anginen berichtet und die dabei gefundenen Mikroorganismen als Millersche Bazillen und Millersche Spirochäten bezeichnet (DmW. 94. 922); es hatten ihm, wie er später (MmW. 05. 1312) erwies, tatsächlich die fusiformen Bazillen vorgelegen. Eine genauere Beschreibung der Mikroorganismen und vieler Krankheitsfälle ist 1896 von H. Vincent und später von ihm und anderen Autoren gegeben worden. Er faßt (MmW. 05. 1287) die Merkmale des Bacillus fusiformis also zusammen: Der spindelförmige Bacillus mißt meist 10 bis 12 μ, in seinen kurzen Formen 6 bis 8 μ, ist gewöhnlich gerade, manchmal sehr wenig einwärts gebogen; er scheint von unregelmäßigen Vakuolen, ungefähr 1 bis 4 an der Zahl, wie durchlöchert, im Speichel wenig oder gar nicht beweglich und färbt sich nicht nach Gram; in Bouillon mit menschlichem Serum oder Exsudatflüssigkeit oder in normaler Zerebrospinalflüssigkeit untersucht, ist er völlig geradlinig und unbeweglich. Derartige Stäbchen kommen, wie erwähnt, neben Spirochäten in der normalen Mundhöhle besonders am geröteten Zahnfleischrand vor; der auf Taf. IV, Fig. 25 abgebildete Bazillus zeigt deutlich ein von den bisherigen Autoren nicht erwähntes, ziemlich breites Ektoplasma.

Reinkulturen von fusiformen Bazillen gewann X. Lewkowicz mittels anaerobiotischer Züchtung nach der Methode vom Veillon (s. S. 146) in Zuckeragar, der mit einer stark eiweißhaltigen Ascitesflüssigkeit versetzt war. Die unbeweglichen Bazillen (JG —) zeigten in nicht mehr ganz jungen Kulturen starke Pleomorphie und wuchsen in 1 bis 2 mm großen Kolonien, die nach etwa 2 Wochen nicht mehr, bei 37° gehalten dagegen 6 bis 8 Wochen lang überimpfbar waren. Die Bazillen erzeugten einen widerlichen Geruch und wirkten für Versuchstiere giftig, aber nicht infektiös (C. 41. 153). V. Ellermann züchtete sie auf Agar, dem auf 2 Teile 1 Teil flüssiges Pferdeblutserum zugemischt war, ebenfalls unter Anaerobiose (C. 38. 388). Auf ähnliche Weise gelang es P. Mühlens, unbewegliche Zahnspirochäten rein zu bekommen (DmW. 06. 797). Im übrigen sei auf die zusammenfassenden Uebersichten von H. Beitzke (C. r. 35. 1), sowie von M. Mayer und O. Schreyer (DmW. 05. 627) verwiesen.

Einen **„Anginabazillus"** besonderer Art stellte H. Bonhoff bei bei 20 gut verlaufenen, sehr kontagiösen Fällen in Marburg fest. Die

Digitized by Google

2 bis 3,5 μ langen, 0,6 μ breiten Stäbchen lagen meist in kleinen Häufchen zusammen, waren aber niemals in so überwiegender Menge, daß man sie als die vorherrschenden erklären konnte. Sie wurden zuerst aus dem Infiltrat erhalten, das sich bei Meerschweinchen bis zum zweiten Tage an der Stelle entwickelt hatte, wo das zum Abwischen der erkrankten Stelle benutzte Schwämmchen subkutan am Bauch eingebracht worden war. Die unbeweglichen Stäbchen (A i nl JG —) wuchsen nur bei höheren Wärmegraden, am besten bei 37° in Bouillon, meist in Fäden von 3 bis 5 Gliedern, ohne Gasbildung bei Vorhandensein von Zucker. Als charakteristisch werden die 48stündigen Agarkulturen beschrieben: Während die 24 Stunden alten bei ihrer Kleinheit von Streptokokkenkolonien kaum zu unterscheiden sind, ist in den verschieden großen 48stündigen eine Faltenbildung in Gestalt von 4 und mehr die Kolonie durchziehenden)(-förmigen Linien oder von konzentrischen Ringen auffallend, die ganz unregelmäßig in Winkeln, Dreiecken u. s. w. im Inneren der Ansiedlung angeordnet sind. Meerschweinchen sterben, wenn man den an der Impfstelle entstandenen Eiter weiterverimpft, erst nach 10, späterhin nach 3 Tagen und schließlich nach 24 Stunden. Erst mit solchen virulenten Kulturen lassen sich auch Kaninchen und Mäuse durch intravenöse oder intraperitoneale Einspritzung töten. In der Bouillon entstehen Gifte; 5 ccm davon Meerschweinchen in die Bauchhöhle gegeben, töten sie in wenigen Stunden unter Temperaturerniedrigung; es finden sich membranöse Fetzen auf Leber, Milz und Därmen (C. 32. 849).

Influenzabazillen sind namentlich zu Epidemiezeiten als Erreger von Erkrankungen der Mandeln, des Rachens und Kehlkopfs nachgewiesen worden. Eine Zusammenstellung der bis 1904 veröffentlichten Fälle gab M. Auerbach (ZfH. 47. 259 und 48. 65).

Ihm ist die Isolierung aus Tonsillen- oder Larynxsekret von diphtheritischen oder diphtherieverdächtigen Fällen unter 700 Proben in über 5% geglückt und zwar auch in solchen, wo der Rachentupfer in üblicher Weise auf Hammelblutserumplatten ausgestrichen worden war; denn der Nährboden ist feucht und es werden auf ihn gleichzeitig eventuell Blut, Eiter, Schleim und Mikroorganismen übertragen, die das Wachstum der Ib. durch Symbiose begünstigen können (siehe S. 382). Aber es ist nötig, in der Zeit von 6 bis 9 Stunden nach der Aussaat ein Klatschpräparat zu machen und mikroskopisch zu untersuchen. Ist dazu voraussichtlich keine Möglichkeit gegeben, wenn z. B. die Aussaat in den späten Nachmittagstunden erfolgen mußte, dann werden außerdem noch Taubenblutagarplatten bestrichen. Die Schälchen nimmt E. Czaplewski von nur 7 cm im Dchm., um mit der üblichen Nährbodenmenge dickere Schichten und so feuchteres Substrat zu haben. Sie werden in eine Büchse gesetzt, in der sich ein feuchter Wattebausch gegen Austrocknung befindet. Nach 12 bis 24, selten erst nach 48 Stunden haben sich etwaige Ib.-Kolonien entwickelt. Das Klatschpräparat wird nach Gram-Weigert gefärbt und, um die dabei entfärbten Ib. leichter aufzufinden, mit verdünnter Karbolglyzerinfuchsinlösung 1 : 10 nachgefärbt. Finden sich im Abklatsch Ib.-ähnliche Stäbchen, dann wird die betreffende Stelle auf der Platte aufgesucht und direkt auf eine Blutagarplatte verimpft, oder wenn die Ansiedlungen reichlicher vorhanden waren, mit dem Platinspatel eine hinreichende Menge entnommen, in 1 ccm Bouillon übertragen und von dieser Aufschwemmung mit einer feinen Oese oder Nadel eine Blutagarplatte besät.

Meningokokken können, worauf C. Flügge hingewiesen hat, eine Angina, insbesondere Pharyngitis hervorrufen. A. Ostermann fand in 6 Familien, wo Meningitisfälle vorgekommen waren, unter

Digitized by Google

24 gesunden Personen 17 Kokkenträger mit wenig ausgesprochenen subjektiven und objektiven Erscheinungen.

Zur Entnahme braucht man ihm zufolge (DmW. 06. 414) Sonden aus weichem Kupferdraht, bei denen am Ende ein 1 bis 1½ cm langes Stück umgebogen und mit steriler Watte umwickelt wird, um möglichst eine größere Schleimflocke aus den hinteren Abschnitten der Nase und dem Rachen herauszuholen, oder eine Stahlsonde mit feststehender Aufwärtsbiegung; diese erfordert weitere Reagenzgläser und Hülsen; die Kupferdrähte können in den üblichen untergebracht werden, wenn man sie vorher (etwa mit einer Pinzette oder Kornzange) wieder gerade gebogen hat. Man kann auch vom Munde aus eingehen. Die Entnahme und Einsendung durch dritte ist wenig empfehlenswert, weil genügende Schleimmengen erforderlich sind, damit die Kokken nicht während des Transports durch Eintrocknung absterben. Die Aussaat muß möglichst bald erfolgen. Ostermann strich auf Ascitesagar aus und prüfte die verdächtigen Kokken, die aufgegangen waren, mit agglutinierenden Seris, was er als unerläßlich bezeichnet, weil im Nasenrachenraum zahlreiche meningokokkenähnliche Bakterien vorkommen.

An sonstigen Erregern von Mandel- und Rachenentzündungen wären zu nennen:

Micrococcus tetragenus (es sind kaum 20 Fälle mitgeteilt), ein Micrococcus conglomeratus, Staphylokokken, Friedländersche Bazillen, von C. Nicolle und A. Hebert (AP. 97. 67) unter 1600 Fällen nur 6mal ermittelt, hier und da Pneumokokken. Hefen, die man mitunter angetroffen hat, war eine krankheitserregende Wirkung nach E. Bertarelli und U. Calamida (C. 30. 60) in den betreffenden Fällen nicht beizumessen; H. de Stoecklin meint, daß Saccharomyces albicans bei Anginen mit oder ohne Diphtheriebazillen die Prognose bedeutend verschlechtere (HR. 9. 629). Ein sehr kleines Stäbchen, Bact. stomatofoetidum (Amp JG —) isolierte T. Fischer bei einem Falle von kontinuierlichem Belag der Mund- und Rachenschleimhaut mit starkem üblen Geruch (ZfH. 49. 329).

Ueber aktinomyzesähnliche Körner in den Tonsillen s. Gappisch, Verhandlg. d. Deutschen pathol. Gesellschaft; 9. Tagung in Meran 05. 130.

Unter dem Namen **Pharyngomykosis leptothricia** sind Fälle beschrieben, bei denen im Rachen oder im Auswurfe gelbliche oder weißliche Klümpchen in größerer Anzahl mit büschelförmigen Fäden im Inneren gesehen wurden. Einen derartigen Befund habe ich einmal in dem von auswärts zugesandten Auswurf erhoben; die mikroskopisch nachweisbaren verfilzten myzelartigen Fäden nahmen mit Jodtinktur eine violette Farbe an.

Lungen.

Pneumonien und Bronchitiden. Die kruppöse Pneumonie wird zumeist vom Diplococcus pneumoniae hervorgerufen; dasselbe oder ein sehr ähnliches klinisches und pathologisch-anatomisches Bild vermögen noch verschiedene andere Erreger zu erzeugen, nämlich der Friedländersche Pneumoniebazillus und der Streptococcus mucosus. Bei diesen beiden ist wiederholt eine schleimig-fadenziehende Beschaffenheit des Exsudats in den Alveolen und Bronchien bemerkt worden (F. Marchand und A. Weichselbaum; H. Schottmüller). Den Micrococcus tetragenus habe ich einmal aus

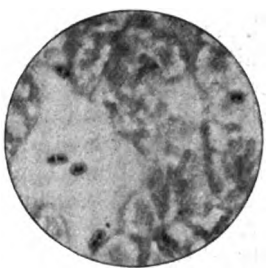
Digitized by Google

einer eingesandten Pneumonielunge als alleinigen Erreger auf Nährböden und im Tierversuch erhalten. Der Streptococcus des Erysipels soll ebenfalls Pneumonie, jedoch eine atypische mit klinisch und pathologisch-anatomisch wechselndem Bilde machen können (H. Schottmüller). Im Anschluß an Influenza kommen nicht selten Pneumonien mit Influenzabazillen vor, bei einem unter dem Bilde einer Pneumonie verlaufenden typhösen Erkrankung konnte A. Dieudonné im hämorrhagischen Sputum Typhusbazillen nachweisen, die noch in der Rekonvaleszenz bis zur 7. Woche nach Beginn der Behandlung vorhanden waren (C. 30. 481); auch bei Diphtherie sind sekundäre Pneumonien durch den spezifischen Erreger beobachtet worden und zu Pestzeiten spielt der Pestbazillus eine wichtige Rolle als Erreger einer pneumonischen Erkrankung.

Der **Diplococcus pneumoniae** ist im Jahre 1886 gleichzeitig von A. Fraenkel und A. Weichselbaum entdeckt und beschrieben

Fig. 209.

Fig. 210.



worden. Wegen seiner zugespitzten Form wurde er auch Dipl. lanceolatus, und weil er mit einer zarten Kapsel umgeben ist, Dipl. lanceol. capsulatus genannt. Er wird einzeln und paarweise angetroffen, in letzterem Falle meistens so, daß sich die beiden kerzenflammenähnlichen Gebilde mit ihrer Basis zugekehrt sind. Die Gramsche Färbung läßt die Kokken tiefdunkelblau, die Kapsel in der Gegenfarbe, z. B. schwachbraun, aber zumeist nicht sehr deutlich begrenzt erscheinen. Der Kapselinhalt nimmt bei der Färbung mit rotstichigem Methylenblau einen zarten Rosaton an, der nicht so intensiv ist wie bei den mehr Schleim bildenden Kapselbazillen und vollends beim Micrococc. tetrag. und dem Milzbrandbazillus. Die Darstellung der Kapsel (s. S. 182f.) gelingt schließlich bei jeder Färbung, gut eignet sich verdünntes oder unverdünntes Karbolfuchsin, bei diesem muß man einen Tropfen Alkohol ins spülende Wasser träufeln lassen. Beim Ausstrich vermeide man die Anwendung von Wasser; dagegen stellt sich die Kapsel durch Quellung besser dar, wenn man das gefärbte Deckglaspräparat auf ein Tröpfchen Wasser legt. Im Blut und in den Organen von geimpften Mäusen habe ich wiederholt Kokken gesehen, bei denen die Kapsel stärker als gewöhnlich gefärbt war, so daß sich der eigentliche Kokkus nicht gut oder gar nicht erkennen ließ. Derartige Bilder scheinen mir auf eine Verminderung der Widerstandsfähigkeit der Bakterien gegenüber der bakterienfeindlichen Wirkung der Körperflüssigkeit hinzudeuten; nur

Digitized by Google

an der Impfstelle waren die massenhaft vorhandenen tiefgefärbten Kokken mit der hellen Kapsel umgeben. Im Körper findet man meistens einzelne oder Doppelkokken, hier und da kurze Ketten von etwa 2 bis 6 Diplokokkenpaaren (Fig. 209 und 210 und Taf. I, Fig. 1).

Die Züchtung gelingt wenigstens auf Agar nicht ausnahmslos, aber allermeist; man glaubt, daß die Alkaleszenz des Nährbodens dabei eine Rolle spiele, die gerade richtig getroffen sein müsse. Schwach alkalisch, heißt es gewöhnlich, soll der Nährboden sein; ein genaues Maß der Alkaleszenz ist aber meines Wissens nirgends angegeben; möglicherweise hängt das Ausbleiben der sichtbaren Kultur von anderen Umständen ab; denn in Bouillon habe ich jedesmal Wachstum bekommen. Jedenfalls findet der Pneumokokkus auf unseren Nährböden keine besonders günstigen Bedingungen, denn seine Kolonien bleiben auch bei Körperwärme klein und unter 22 bis 24° wächst er überhaupt nicht mehr. Als besten und zuverlässigsten Nährboden ermittelte A. Weichselbaum eine Mischung von 1 Teil Menschenblutserum mit 2 Teilen Nähragar. Ferner wird bluthaltiger Agar empfohlen, namentlich sollen sich auf diesem die Kapseln schön zeigen, die man sonst gewöhnlich nur in der ersten Generation angedeutet sieht. In Bouillon erfolgt reichliche Entwicklung unter Trübung; gleichzeitig kann man Säurebildung nachweisen, besonders kräftige bei Gegenwart von Zucker, der sich zwar günstig für den Anfang der Entwicklung erweist, aber nachher wegen der aus ihm entstehenden Säure nicht mehr. Die Kulturen gehen gewöhnlich schon im Laufe der ersten Woche ein. Man kann aber auf Monate hinaus virulentes Material unverändert vorrätig haben, wenn man pneumokokkenhaltiges Blut, Sekret, Eiter an Seidenfäden im Exsikkator aufbewahrt. Manchmal halten sich die Kokken auf diese Weise über 1 Jahr; an daraus angelegten Kulturen habe ich die geimpften Mäuse zwar in der richtigen Zeit sterben sehen, aber die Kapselkokken in der vorhin beschriebenen Weise mangelhaft differenziert gefunden, nur an der Impfstelle waren sie richtig zur Darstellung gekommen.

Die empfänglichsten Versuchstiere sind Mäuse und junge Kaninchen. Erstere erliegen der Impfung gewöhnlich in 24 bis 48 Stunden, wenn man Bouillonkulturen einführt. Material aus der Leiche tötet nicht so sicher; ich habe Kaninchen und Mäuse am Leben bleiben sehen, wenn ihnen Teilchen von Pneumonielungen, die mikroskopisch zahlreiche Diplokokken enthielten und auch Kulturen lieferten, unter die Haut gebracht worden waren; an der Impfstelle trat dann Eiterung auf. Will man Pneumoniematerial sicher bekommen, dann muß man sowohl Tiere impfen, als auch Kulturen anlegen.

Der typische Pneumokokkus bildet in der Kultur stets nur kurze Ketten, meist sogar nur Diplokokken oder einzelne Kokken mit Andeutung einer Schleimschicht, aber ohne deutliche Kapsel (Taf. I, Fig. 2), die mit Weiterfortzüchtung auf Nährböden ohne Serum oder Blut immer mehr zurücktritt.

Es gibt Varietäten, atypische Pneumoniekokken, die etwas kleiner erscheinen als der Diplococcus pneumoniae. Sie haben im Tierkörper ebenfalls eine Kapsel, die aber nicht immer ganz deutlich sichtbar ist; ihre Gestalt ist öfters rundlich, immerhin kann man sie fürs erste im gefärbten Ausstrich aus dem Körper von den typischen Pneumokokken

Digitized by Google

nicht sicher unterscheiden. Dagegen haben sie in der Kultur längere Ketten, die teils in Knäueln, teils einzeln liegen, dann gerader und starrer aussehen, als man es beim Streptococcus pyogenes zu sehen gewohnt ist, und den Namen Streptococcus pneumoniae verdienen. Ihre Virulenz ist geringer, sie töten die Mäuse nicht so terminsicher, beispielsweise hatte ich einen Stamm, von dem die Fig. 3 und 4 auf Taf. I herrühren, der bei subkutaner Verimpfung von 1 Oese Bouillonkultur bei der einen Maus den Tod in 91 Stunden, bei einer anderen erst in 71 Tagen herbeiführte (s. ZfH. 50. 128).

Pneumoniekokken sind nicht selten im Blute der Kranken vorhanden. H. Schottmüller fand sie bei 23 % von 227 Untersuchungen in unterschiedlicher Reichlichkeit, einmal nur 1 Kolonie in 22 ccm Blut, meist 6 bis 20 in je 1 ccm, einigemal 1 bis 2000, einmal (10 Stunden vor dem Tode) unzählige (MmW. 05. 1425). Sie kommen ferner, wie S. 339 erwähnt, bei Entzündungen und Eiterungen, oft gutartigen Charakters, als Erreger vor.

Die Gewinnung eines antitoxischen Serums ist, da die Pneumokokken nur oder mindestens vorwiegend Endotoxine besitzen, in wünschenswerter Weise noch nicht gelungen, am meisten ist es hergestellt und gebraucht worden für die Behandlung des Ulcus corneae serpens von P. Römer. Eine zusammenfassende Uebersicht über die Serumtherapie bei Pneumonie von G. v. Marikovszky findet sich r. C. 34. 481. Die Agglutination durch spezifisches Serum ist noch nicht zu allgemein praktischer Verwendbarkeit gediehen.

Der **Bacillus pneumoniae** (A i nl JG —) ist 1883 von C. Friedländer (als Kokkus) beschrieben worden. Er besitzt eine im Körper sehr deutliche Kapsel (Taf. I, Fig. 6); in der Gelatinekultur sieht er schlanker aus, als wenn er auf brütbeständigen Nährböden bei Körperwärme gewachsen ist, und bildet dort manchmal Scheinfäden von beträchtlicher Länge. Gewöhnlich sieht man in der Kultur mäßig lange Stäbchen ohne Hülle, aber wenn der Untergrund, z. B. infolge ausgestrichenen Kondenswassers, schwach gefärbt ist, einen breiten hellen Hof um das Stäbchen, anderseits wiederum eine Hülle, die den Farbstoff so sehr angenommen hat, daß das Stäbchen in ihr kaum mehr zu unterscheiden ist und das ganze Gebilde über doppelt so dick wie ein nackter Bazillus aussieht, ferner bemerkt man, ähnlich wie bei Kulturen anderer schleimbildenden Bakterien, z. B. Micrococcus tetragenus, zwischen den Bakterien netzförmige Streifen, insbesondere wenn bei der Fixierung etwas stark erwärmt wurde, endlich begegnet man oft ganzen Zooglöen, bei denen die Stäbchen die Farbe kaum angenommen haben und hell innerhalb ihrer Konturen und des sie umgebenden Schleimes heraussehen. Der Schleim gibt mit rotstichigem Methylenblau eine schwache Rosafärbung. Der Friedländersche Bazillus verhält sich im allgemeinen Gram-negativ, doch bekommt man mitunter Präparate, besonders bei Ausstrichen aus dem Tierkörper, in denen die JG-Färbung der Stäbchen einer vorsichtigen Anwendung von Alkohol standgehalten hat.

Die Kultur gelingt leicht auch auf Gelatine, wo sich kuppenförmige, weiße, runde Kolonien bilden, die so schleimig sind, daß sie von der schrägen Oberfläche allmählich abfließen. In gerade erstarrter

Digitized by Google

Gelatine entsteht bei entsprechender kuppenförmiger Ausbildung die sogenannte Nagelkultur; um den Einstich bräunt sich die Gelatine mit der Zeit, namentlich in den obersten Schichten. Bouillon wird stark getrübt, Zucker nicht von allen Stämmen vergoren. Die Kulturen bleiben gewöhnlich monatelang überimpfbar, an Seidenfäden angetrocknetes Blut enthält etwa 6 Monate hindurch, manchmal auch etwas länger entwicklungsfähige Keime.

Das geeignetste Versuchstier ist die Maus, Meerschweinchen eignen sich nicht gut, noch weniger Kaninchen. Man soll sie gegebenenfalls in die Bauchhöhle oder in die Blutbahn spritzen. Mäuse erliegen dagegen auch der Infektion unter die Haut in ungefähr 2 Tagen oder etwas später.

Die Friedländerschen Bazillen vermögen auch an anderen Stellen des Körpers krankheitserregend zu wirken und Eiterungen, selbst Pyämien hervorzurufen. Bei Ozäna und Rhinosklerom sind Kapselbazillen gefunden worden, die sich von ihnen nur wenig unterscheiden (s. S. 367). Ueber die Einteilung der Kapselbazillen und ihre Immunitätsreaktionen s. E. Bertarelli (r. C. 37. 338).

Streptococcus mucosus. H. Schottmüller stellte ihn als Erreger der Pneumonie gelegentlich seiner Blutuntersuchungen fest, und zwar in 5 tödlich verlaufenen Fällen, 1mal züchtete er ihn auch aus dem grünlichen Eiter eines postpneumonischen Empyems bei einem mit Genesung endigenden Fall.

Der Bacillus pestis (s. S. 342) erzeugt nicht bloß im Verlaufe der Erkrankungen Lungenaffektionen, sondern auch primäre, die prognostisch sehr ungünstig sind und namentlich im Anfange einer Epidemie unter den Erscheinungen einer schweren Pneumonie auftreten, so daß eine gewöhnliche kruppöse vorgetäuscht werden kann. Nur die bakteriologische Untersuchung gibt hier sicheren Aufschluß. Die Pestbazillen kommen im Sputum auch ohne pneumonische Erscheinungen vor (M. Schottelius, HR. 01. 105). Ferner ist die Mitteilung von E. Gotschlich wichtig, daß selbst scheinbar genesene Pestkranke am 35., 41., ja einmal sogar noch am 76. Tage nach Beginn der Krankheit lebende und virulente Pestbazillen im Auswurfe hatten (ZfH. 32. 402).

Micrococcus catarrhalis. O. Seifert hat ihn bei infektiöser Bronchitis gesehen, später züchtete ihn M. Kirchner bei influenzaähnlichen Erkrankungen, R. Pfeiffer aus dem Sputum fieberhafter Bronchitiden und bei Bronchopneumonien kleiner Kinder und M. Neißer begegnete ihm bei 25 keuchhustenkranken Kindern fast in jedem Falle (DmW. 05. 575).

Der Micr. cat. ist von A. Ghon und H. Pfeiffer in bakteriologischer und von H. Sederl in klinischer Hinsicht an einem größeren Material studiert worden. Ihren Darlegungen (Z. f. klin. Med. 44. 262) sind die nachstehenden Punkte entnommen. Der Micr. cat. ist selten allein vorhanden, meist gleichzeitig mit Pneumokokken, Influenzabazillen, Staphylokokken, Streptokokken und anderen. Er bildet mit dem Micr. gonorrhoeae und dem Micr. meningitidis zusammen eine Gruppe; allen dreien ist die intrazellulare Lagerung gemeinsam, sie

Digitized by Google

sind exquisite Aerobier, wachsen in Bouillon mit Kahmhaut, in Stichkulturen fast ausschließlich an der Oberfläche und entfärben sich nach Gram.

Der Micr. cat. wird in den Sekreten der Respirationsorgane angetroffen, aber nicht immer als Erreger von entzündlichen Veränderungen, insbesondere im Schleim der Nase und des Rachens (s. Taf. III, Fig. 18). Im Sputumpräparat oder im pneumonischen Exsudat findet er sich meist als Diplokokkus, häufig als Tetrakokkus, seltener in kleinen Häufchen, sowohl außerhalb als innerhalb von Leukozyten, niemals in Ketten. An Größe übertrifft er den Gonokokkus etwas.

Als geeignetster Nährboden wird serumhaltiger Agar genannt, der in wichtigen Fällen immer verwendet werden soll, demnächst Blutagar. Der Micr. cat. wächst auch auf gewöhnlichem Agar, Glyzerinzusatz ist unnötig, Zusatz von Traubenzucker fördert nur in den ersten 48 Stunden. Auf Gelatine tritt erst nach 5 bis 6 Tagen geringes Wachstum ein, wenn die Temperatur nicht unter 18° sinkt. Das Optimum liegt um 37°.

Die 24stündige Kolonie auf der Agaroberfläche wird als charakteristisch bezeichnet; sie ist nicht größer als eine von Streptokokken, weißgrau, lackartig glänzend und zeigt bei schwacher Vergrößerung eine gleichmäßige grobe Körnung mit gelbbrauner Färbung und einen unregelmäßigen, wie angefressen aussehenden Rand; in älteren, 3 bis 4 mm großen Ansiedlungen ragt der mittlere Teil stärker hervor. In diesen zentralen Partien sind mikroskopisch mehr oder weniger dicht gelagerte, größere und kleinere Bröckchen zu sehen. Beim Abstreifen verschiebt sich die Kolonie auf der Agaroberfläche und zerfällt dabei wie Mörtel. Die Kulturen der ersten Generation wachsen weniger üppig und gehen leichter ein. In Bouillon (auf Phenolphthalein neutralisiert) ist zumeist eine Kahmhaut und Ringbildung zu bemerken, sowie eine zarte Trübung; fehlt die Kahmhaut, dann ist die Bouillon klar mit reichlichem Bodensatz.

Die Pathogenität für Tiere ist sehr gering; es lassen sich nur Mäuse töten, wenn ihnen wenigstens eine halbe, Meerschweinchen, wenn ihnen nicht weniger als eine ganze Agarkultur in die Bauchhöhle gespritzt wird; danach finden sich im Blut und in den Organen fast niemals Kokken, dagegen Entzündung der serösen Häute und zwar auch nach tödlich wirkender Einspritzung abgetöteter Agar-, nicht bei Einspritzung filtrierter Bouillonkulturen. Schließlich seien die Unterscheidungsmerkmale gegenüber Micr. mening. angeführt:

Micr. meningitis	Micr. catarrhalis
Kolonien saftig, mehr grau	Weißgrau von mörtelartiger Konsistenz
Kolonien mikroskopisch fein granuliert	Grob granuliert, Rand wie angefressen
In allen Nährböden gleichmäßig zartes Wachstum	Ueppiges Wachstum
Unter 20° keine Entwicklung	Wachstum auch unter 20°
Geringere Lebensfähigkeit	Größere Lebensfähigkeit
—	Etwas größere Formen der Einzelindividuen.

Bacillus influenzae. R. Pfeiffer hat diese kleinsten Stäbchen in der Influenzaepidemie Anfang der 90er Jahre in Gemeinschaft mit

Digitized by Google

M. Beck im Sputum von sämtlichen Kranken gefunden. Sie sind in dem gelbgrünlichen Auswurf und im Nasensekret, sowie in den Lungen und Brustfellausschwitzungen enthalten. In den großen parenchymatösen Organen wurden sie nur zuweilen angetroffen, mitunter im Gehirn (A. Pfuhl, ZfH. 26. 112). In septikämischer Verbreitung fand sie Slawyk bei einem Kinde (AfH. 32. 443). Im Blute der Kinder, namentlich solcher, die gleichzeitig an Masern, Scharlach oder Varizellen litten, sind sie wiederholt von L. Jehle (Jahrber. 01. 206) nachgewiesen worden; im Blute von Erwachsenen kommen sie nur ausnahmsweise vor. Die Allgemeinerscheinungen bei der Erkrankung beruhen weniger auf Einwanderung der Stäbchen ins Körperinnere, als auf einer von ihnen ausgehenden Giftwirkung. Das Gift ist ein Endotoxin.

Im Sputum, Nasensekret und Exsudaten sind die Bazillen oft massenhaft in Schwärmen vorhanden (s. Taf. VI, Fig. 36). Die einzelnen Stäbchen sind etwa 2- bis 3mal so lang als breit, selten (in Kulturen häufiger) in kurzen Scheinfäden vereinigt; wegen der Kleinheit haben französische Autoren mitunter den Namen Coccobacillus haemophilus gebraucht.

Zur Untersuchung ist am besten das erste aus der Lunge ausgehustete Morgensputum zu verwenden. Die geeignetste Färbung ist die mit verdünntem Karbolfuchsin (1 : 10) 5 bis 10 Minuten lang; dabei zeigt sich manchmal Polfärbung. Schnittpräparate werden ½ Stunde in 10- bis 20fach verdünntem Karbolfuchsin gefärbt, dann in ganz schwach mit Essigsäure versetzten Alkohol übertragen; hier müssen sie sorgfältig überwacht werden; sobald die schwarzrote Farbe zum rotvioletten Ton abgeblaßt ist, wird sofort in Xylol übertragen. Die Ib. sind unbewegliche obligate Aerobier (JG —).

Zur Züchtung ist unbedingt das Vorhandensein von Hämoglobin erforderlich. Man verreibt entweder ein Auswurfteilchen mit einigen Tröpfchen Blut auf der Oberfläche von Agar oder bestreicht den Nährboden schon vorher mit einer Hämoglobinlösung oder mit frisch aus der Flügelvene entnommenem Taubenblut (s. S. 93 f.); in diesem Fall müssen die Röhrchen erst einen Tag im Brütschrank gehalten werden, damit sich zeigt, ob sie nicht verunreinigt sind; das Blut darf dabei nicht eintrocknen, es muß noch Kondenswasser im Röhrchen vorhanden sein. Das Ausgangsmaterial wird in Bouillon oder sterilisiertem Wasser durch Schütteln fein verteilt und von der Emulsion je eine Platinöse gleichmäßig auf der Oberfläche des Blutagars verrieben; zur Kontrolle muß von derselben Emulsion ein Ausstrich auf gewöhnlichen Agar gemacht werden. Wie im Kondenswasser solcher Röhrchen wachsen die Ib. auch in hämoglobinhaltiger Bouillon; sie soll in dünner Schicht ausgebreitet sein, etwa in Erlenmeyerschen Kölbchen, damit den Bakterien genügend Sauerstoff geboten ist. Die beste Temperatur ist 37°; die niedrigste, bei der man noch Entwicklung gesehen hat, 22°. Die Ansiedlungen sind klein und glasartig transparent. Die dunkeln Punkte in Fig. 35 der Taf. VI zwischen und auf den Kolonien sind Blutkörperchen. Die Kulturen müssen mindestens alle 8 Tage übertragen werden, wenn man sie fortzüchten will.

A. Ghon und W. v. Preyß (C. 35. 531) erhielten gutes Wachstum und große Kolonien, wenn sie dem Agar serumfreies Blut, das

Digitized by Google

zusammen mit Normalsodalösung gekocht worden war, zufügten, namentlich wenn sie das Gemisch erst 2 bis 4 Wochen stehen ließen. Soll dieser undurchsichtige Nährboden durchsichtig gemacht werden, muß man ihn filtrieren, dann sind aber noch 2 bis 3 Tropfen einer abgetöteten Kulturaufschwemmung von Staph. pyog. aur. oder von Diphtheriebazillen und anderen auf der Oberfläche des erstarrten Nährbodens zu verteilen. Nach R. Graßberger ermöglichen sterilisierte Kulturen von Staph. pyog. aur. mit Blut bestrichen ein Riesenwachstum der Ib., nur dürfen die Staph.-Kulturen nicht älter als 24 Stunden sein. Auch zusammen mit lebenden Staphylokokken gedeihen die Ib. auf Blutnährböden üppiger (ZfH. 25. 453). Es eignen sich außerdem noch andere Mikroorganismen, aber nicht alle in gleichem Maße; ja selbst verschiedene Stämme derselben Art sind den Nachprüfungen von A. Luerssen (C. 35. 434) zufolge nicht gleich gut verwendbar; eine allenfallsige Abtötung soll bei nicht mehr als 60° geschehen. A. Cantani jr. fand unter anderem Gonokokken, M. Neißer Xerosebazillen als brauchbar zur Erzielung einer Symbiose (DmW. 03. 462). Manche im Auswurf vorhandene Bakterien können durch ihr Mitwachstum begünstigend wirken.

Die Widerstandsfähigkeit der Ib. gegen Austrocknung und gegen Wärme ist gering; bei 60° gehen sie schon in wenigen Minuten zu Grunde; Chloroformdämpfe töten sie bald.

Tierversuche verlaufen negativ, nur Kaninchen sterben, wenn ihnen größere Gaben intravenös gegeben werden. Stürmischer wirkten die von A. Cantani jr. (ZfH. 23. 265) vorgenommenen Einspritzungen ins Gehirn nach Trepanation; Passagen durch das Kaninchenhirn ergaben eine Virulenzsteigerung; sie war schon zu bemerken, wenn die Ib. gleichzeitig mit emulgierter Gehirnmasse Kaninchen unter die Haut oder in die Bauchhöhle einverleibt wurden. W. Delius und W. Kolle sahen Peritonitis und Vermehrung in der Bauchhöhle von Meerschweinchen, Kaninchen und Mäusen (ZfH. 24. 327). Dyspnoische Erscheinungen und lähmungsartige Schwäche lassen sich bei Kaninchen wie mit lebenden so auch durch Einspritzung mit Chloroform abgetöteter Kulturen, also durch Giftwirkung hervorrufen. Als empfänglichste Tiere fand R. Pfeiffer Affen; sie erkrankten nach Einstreichung von Kultur in die Nase oder nach Einspritzung in die Lunge oder Trachea; der eingetretene Tod war auch hier auf Vergiftung zurückzuführen (R. Pfeiffer, ZfH. 13. 357; M. Beck, Hdb. d. path. Mikr. 3. 359).

Bei influenzaartigen Erkrankungen der neueren Zeit hat man vielfach die Bazillen nicht mehr in der Menge und so oft gefunden als früher. Schon durch die ersten Untersuchungen von R. Pfeiffer ist bekannt, daß sie im Verlauf der Erkrankung winziger, schlechter färbbar und teilweise von Eiterzellen aufgenommen sind. Es rührt dies möglicherweise daher, daß die Infizierten von früheren Erkrankungen einen gewissen Grad der Immunität behalten haben (A. Wassermann, DmW. 00. 445); wenn das richtig ist, müßte man bei noch nicht durchseuchten erkrankten Kindern die Ib. noch heute in der typischen Anordnung, Zahl und Färbbarkeit finden. C. Klieneberger vermochte in siebenundzwanzig gelegentlich einer Influenzaepidemie 1904/05 in Frankfurt a. M. untersuchten Fällen mikroskopisch und mit der

Digitized by Google

Kultur nur 8mal Ib. zu entdecken; bei fast allen Kranken fiel das gelegentlich überwiegende Vorhandensein von Micrococcus catarrhalis auf (DmW. 05. 575).

Früher sorgte man sich viel um das Vorkommen von Pseudo-Ib. und deren Unterscheidung von echten. Allmählich ist man zu der Ansicht gekommen, sich durch kleine morphologische Unterschiede nicht beirren zu lassen und alle, namentlich in den Atmungsorganen gefundenen Bakterien, die die Eigentümlichkeiten der Ib. besitzen, als solche anzusprechen. Unter den Krankheiterregern kennt man nur einen ihm ähnlichen, aber sicher von ihm verschiedenen, das ist der Koch-Weekssche Bazillus der epidemischen Konjunktivitis.

Keuchhusten. Von verschiedenen Untersuchern sind verschiedene Mikroorganismen gefunden und teilweise mit der Krankheit in ursächlichen Zusammenhang gebracht worden, so hämophile Bakterien, also den Ib. ähnliche Bakterien der Xerosegruppe, Micr. catarrhalis u. a. Die Aetiologie ist bis jetzt nicht aufgeklärt worden (s. R. Rahner, AfH. 40. 63).

Tuberkulose.

Die **Tuberkelbazillen** wurden von R. Koch 1882 entdeckt (KGA. Mittlg. 2. 1). Es sind schlanke Stäbchen von verschiedener Dicke und Länge, bald gerade, bald gekrümmt oder geschwungen, gerne in Haufen oder Häufchen beisammen, entweder parallel gelagert oder Y- oder pinselförmig auseinanderstrebend. Im Inneren bemerkt man oft helle Stellen (keine Sporen) und kräftig gefärbte Körnchen, letztere nach dem Kochen mit verdünnter Kalilauge als knopfförmige Auftreibungen. E. Metschnikoff sah die Stäbchen als einen Entwicklungszustand einer Fadenbakterie an, F. Fischel, A. Coppen Jones, H. Bruns u. a. haben verästelte Formen mit birnförmigen Anschwellungen beschrieben, Knospen von oft keulenförmiger Gestalt mit helleren Stellen (Vakuolen) im Inneren, namentlich an den Stellen, wo Verzweigung statthat. Die verschiedenen Wuchsformen sprechen dafür, daß die Tb. eher zu den Streptotricheen als zu den Bakterien gehören, aber eine sichere Stelle kann man ihnen auch dort nicht geben.

Sporen bilden sie nicht; trotzdem sind sie gegen äußere Einflüsse ziemlich widerstandsfähig. Eintrocknung vertragen sie wochen- und monatelang. In Flußwasser und Kanaljauche fand sie Musehold 5 Monate und länger virulent. Bei 70° gehen sie in wenigen Minuten zu Grunde.

Die Färbungsmethoden beruhen auf der Eigenschaft, daß sie den Farbstoff schwer aufnehmen, dann aber zäh festhalten, so daß man selbst verdünnte Säuren und Alkohol wirken lassen darf; sie sind also sowohl säure- als auch alkoholfest.

Das ist auf das Vorhandensein fettartiger Stoffe zurückzuführen. Näheres siehe bei K. Kresling, C. 30. 897; A. Grimme, C. 32. 165; Bulloch und Macleod, r. C. 36. 563. Nach R. Koch und B. Proskauer enthalten die Tb. zwei den ungesättigten Fettsäuren zugehörige Körper; der eine ist in verdünntem Alkohol löslich und wird durch Natronlauge leicht verseift; der andere löst sich nur in siedendem Alkohol oder Aether und ist schwer verseifbar. Beide behalten die Karbolfuchsinfärbung auch nach der Behandlung mit verdünnter Schwefel-

Digitized by Google

säure und Alkohol. Bei der Tb.-Färbung wird die erste der beiden Fettsäuren aus den Bazillen herausgezogen, die zweite, in kaltem Alkohol unlösliche, bleibt zurück, sie fixiert den Farbstoff und ist somit der eigentliche Träger der Tb.-Färbung (DmW. 97. 211). H. Aronson hat dann nachgewiesen, daß es sich bei der ätherlöslichen Substanz um Wachs handle (BkW. 98. 484; 02. 650).

Als Nährboden wurde von R. Koch bei seinen ersten epochemachenden Arbeiten erstarrtes Blutserum verwendet und dieses ist auch jetzt noch in erster Linie zu empfehlen. Nur muß es in feuchter Luft zum Erstarren gebracht worden sein (s. S. 102). Auf diesem Substrat bewahren die Tb. am sichersten ihre Virulenz. Der von Nocard und Roux (AP. 1. 19) angegebene Glyzerinzusatz liefert wesentlich üppigere Kulturen und macht auch Agar zur Züchtung geeignet. Man setzt 2 bis 2,5 % zu. Glyzerinagar eignet sich aber nur zur Fortzüchtung, nicht zur Gewinnung der Kultur aus dem Körper. Glyzerinbouillon wird zur Erzielung von Massenkulturen benutzt. Man nehme nach H. Bonhoff Kalbslungenbouillon (HR. 92. 1009); ihre Reaktion sei amphoter. Wie R. Koch betonte, muß man sich bemühen, das Aussaatmaterial wenigstens zum Teil auf die Oberfläche der Flüssigkeit zu bringen und dort schwimmend zu erhalten, dann entwickeln sich dicke faltige Ueberzüge, die allmählich untersinken. Die Kultur besitzt einen blumenartigen Geruch. Sehr gut eignen sich ferner Glyzerinkartoffeln (s. S. 109).

Die Nährmittel mit Fleischwasser (oder Fleischextrakt) brauchen nicht neutralisiert zu sein; eine nicht zu stark saure Reaktion ist sogar günstig. M. Ficker erzielte die besten Erfolge durch Verwendung des von Natur sauern Gehirns (s. S. 106), wenn es zu gleichen Teilen mit Glyzerinserum oder einer Glyzerinagarlösung vermischt wurde. J. Karlinski nahm Fischfleischabkochung (1 kg feingehacktes Welsfleisch zu 1 l Wasser, einen Tag gut ausgelaugt, dann abfiltriert und mit 15 g Pepton, 5 g Kochsalz, 30 g Glyzerin, 10 g Agar versetzt). G. Jochmann säuerte Blutserum oder Bouillon, wenn sie nicht schon von Haus aus sauer war, mit 10 Tropfen 1proz. Milchsäure auf je 50 ccm. an (HR. 00. 969).

Kartoffeln sind zuerst von A. D. Pawlowski mit Erfolg zur Tb.-Züchtung verwendet worden (AP. 88. 303), später von Sander als Kartoffelbrühe mit und ohne Glyzerinzusatz (AfH. 16. 238) und von Ws. Lubinski außerdem noch als Glyzerinkartoffelagar (Kartoffelsaft anstatt Fleischwasser, C. 18. 125). Die schräg halbierten Kartoffelzylinder, in Glyzerinwasser geweicht und auf Glyzerinwasser stehend, sind nach S. Arloing und P. Courmont von E. Krompecher und K. Zimmermann (C. 33. 580) als einfachster Nährboden empfohlen worden; die Kultur wird gewöhnlich nicht vor dem 23. Tage sichtbar, manchmal noch viel später; in der Folge entstehen üppige Ueberzüge, die sich eine Strecke weit an der Glaswand emporschieben. J. Anzilotti erhielt auf den vorher in alkalischem Glyzerinwasser gekochten Kartoffelstücken (s. S. 109) schon am 4. oder 5. Tage sichtbare, am 15. Tage üppige Kulturen, die viel virulenter waren als die auf Glyzerinagar oder Blutserum gezüchteten (C. 40. 765).

Zur Züchtung aus dem Körper entnimmt man unter aseptischen Vorsichtsmaßregeln ein Stück erkrankten Gewebes aus einem größeren Organ oder einer Drüse, zerquetscht es zwischen den Faßarmen einer sterilen Pinzette und verteilt es gleichmäßig auf dem Nährboden. Man impft wenigstens 2 Glyzerinkartoffel- oder 4 bis 6 Serumröhrchen und bedeckt sie danach mit Gummikappen. Um den Sauerstoff der Luft nicht abzuhalten, versah Vagedes die Hütchen mit einem kleinen seitlichen Einschnitt (ZfH. 28. 281); andere hatten bessere Ergebnisse mit Paraffinverschluß. Man kann den Verschluß ganz weglassen, muß aber dann die Kulturen in eine feuchte Kammer stellen,

Digitized by Google

z. B. in den Kulturkasten aus Blech mit Glastafel nach F. Hofmann (M. Ficker, C. 27. 507).

Von empfänglichen Versuchstieren kommt in erster Linie das Meerschweinchen, dann das Kaninchen; bei diesem wird vielfach in die vordere Augenkammer geimpft; nur hochvirulente Kulturen erzeugen von hier aus nach Vagedes disseminierte Tuberkulose, die weniger virulenten nicht (C. 34. 507). Von Mäusen ist die Feldmaus empfindlicher als die Hausmaus; daß letztere nicht völlig unempfindlich ist, zeigte P. H. Römer (Habil.schr. Marburg 03). Seinen Untersuchungen sind folgende Zahlen entnommen: An menschlichen Tb. starben (die erste Zahl jeder Reihe bedeutet die eingeführte Menge in Kubikzentimetern):

Meerschweinchen (subkutan)	Kaninchen (intravenös)	Mäuse (intraperitoneal)
0,01 in 42 Tagen	0,01 in 14 bis 18 Tagen	0,0025 in 1 bis 6 Monaten
0,005 „ 75 „	0,001 „ ca. 9 Wochen	0,01 „ ½ „ 1 Monat
an Rindertuberkulose		
0,01 in ca. 42 Tagen	0,01 in 7 bis 15 Tagen	0,0025 in 1 bis 1½ Mon.
0,001 „ „ 60 „	0,001 „ 14 „	0,01 „ 4 „ 9 Tagen

Perlsuchtbazillen. Seitdem R. Koch auf dem Tuberkulosekongreß zu London im Jahre 1901 auf Grund seiner mit W. Schütz angestellten Untersuchungen die Mitteilung gemacht hatte, daß Rinder nicht mit menschlichen Tb. zu infizieren und seiner Ansicht nach umgekehrt die Perlsuchtbazillen nicht auf Menschen übertragbar seien (DmW. 01. 549), sind zahlreiche Meinungen für und wider geäußert und mancherlei Experimente gemacht worden, die ausgedehntesten im KGA., deren Ergebnis in kurzem war, daß Rinder nicht mit menschlichen Tb. infiziert werden können, so daß sie an disseminierter Tuberkulose erkrankten oder daran stürben. H. Kossel, A. Weber und Heuß (KGA. Tub.-Arb. Heft 1 und 3) züchteten verschiedene Stämme aus Meerschweinchen, die teils mit menschlicher, teils mit Säugetiertuberkulose geimpft worden waren, und konnten danach zwei Typen unterscheiden, den Typus humanus und den Typus bovinus. Aus dem Rinderkörper wurde immer nur der Typus bovinus gewonnen. Unter 67 verschiedenen Fällen von Tuberkulose des Menschen war in 56 Fällen der Typus humanus allein, in 2 Fällen zusammen mit Typus bovinus, in 9 Fällen der Typus bovinus allein vorhanden; in letzteren handelte es sich ausschließlich um Kinder im Alter bis zu 8 Jahren, von denen bei sechs mit Sicherheit Ansteckung durch den Darm anzunehmen war; von den 2 Fällen mit beiden Typen betraf der eine ein 5½jähriges Kind, der andere eine 30jährige Frau (DmW. 05. 1603).

Die Ergebnisse der Ueberimpfungen mit menschlichem tuberkulösem Auswurf oder von Reinkulturen beider Typen auf Rinder (und Schweine) waren folgende:

Digitized by Google

	Typus humanus	Typus bovinus
Einspritzung unter die Haut:	Keine Erkrankung an disseminierter Tuberkulose, kein Todesfall = 0 %	Sämtliche Tiere erkrankten an dissem. Tub. = 100 % eines starb = 11 „
Verfütterung von Auswurf:	Keine Erkrankung = 0 %	Von 7 erkrankt. alle = 100 % 3 starben = 43 „
Verfütterung von Reinkulturen:	Drüsentuberkulose, die ausheilte	Tod
Inhalation:	Kälber erkrankten entweder gar nicht oder nicht an fortschreitender Tub.	Sämtliche Kälber erkrankten an fortschreitender Tub. und starben
Bei Schweinen (Ferkeln):	Meist Drüsen-, auch Lungentub. Mehr pathogen als beim Rind	Ausgebreitete Tub.

Die Unterschiede zwischen menschlichen Tb. und Perlsuchtbazillen sind nach den genannten Untersuchern folgende:

	Menschliche Tb.	Perlsuchtbazillen
Auf erstarrtem Blutserum (ohne Glyzerin):	Wachsen leichter	Wachsen langsamer und geringer
In Glyzerinbouillon:	Meist gutes Wachstum; gleichmäßig dicke, faltige Haut, an der Kolbenwand emporkletternd	Wachsen langsamer, spärlicher, unzuverlässiger; ganz feines, netz- oder schleierartiges Häutchen, häufig schon nach einigen Tagen, manchmal mit warzigen Verdickungen
Auf Kartoffeln (nach J. Arpád, r. C. 34. 117):	Fast ausnahmslos gelblichrötliche (ziegel- u. orangerote) Kulturen, namentlich bei Verwendung gelber und blauer Kartoffelsorten	Färbung tritt niemals ein
Subkutane Verimpfung von 0,01 ccm auf Kaninchen:	Es entsteht meist keine Tuberkulose	Allgemeine Tub. (wird auch durch die vom Schwein stammenden Bazillen hervorgerufen)
Aussehen der Stäbchen (nur gültig für solche, die auf Glyzerinbouillon gewachsen sind):	Schlank, unter sich meist gleichmäßig gestaltet, den Farbstoff gleichmäßig aufnehmend	Dicker, plump, unregelmäßig gestaltet, den Farbstoff ungleichmäßig aufnehmend; häufig keulenförmige oder gekörnte, an Db. erinnernde Stäbchen; Neigung zu Pleomorphismus.

Digitized by Google

Nach C. Spengler sind die Perlsuchtbazillen nicht absolut säurefest. Sie nehmen eine Mittelstellung zwischen gewöhnlichen und säurefesten Bazillen ein; er wendete deshalb folgende Methode an:

Färbung mit kaltem Karbolfuchsin 1 bis 5 Minuten, allenfalls im Brütschrank. Abspülen nur mit 60proz. Alkohol, bis keine Farbe mehr abgeht.

Aufs Deckglas in den Alkoholrest 1 Tropfen Loefflers Blau, entzünden, hin und her bewegen, etwa 2 bis 3 Sekunden.

Rasch mit Wasser spülen, trocknen zwischen Fließpapier und behutsam über der Flamme.

Die Perlsuchtbazillen werden leuchtend „arteriell" rot, erscheinen wesentlich größer, dicker und länger als die Tb. Die Tb. sind „venös" rot, beziehungsweise violett, dünn, atrophisch aussehend (DmW. 05. 1228).

Hühnertuberkulose. Wie die menschliche von der Rindertuberkulose, so ist die Säugetiertuberkulose von der Hühnertuberkulose verschieden. Daß diese eine Abart sei, war schon 1887 durch Nocard und Roux, sowie A. Yersin wahrscheinlich gemacht, wurde 1889 von S. Rivolta bestimmt ausgesprochen und von A. Maffucci u. a. bestätigt. Im nachfolgenden sind die wichtigsten Dinge und Unterschiede nach den Untersuchungsergebnissen von A. Weber und H. Bofinger (KGA. Tub.-Arb. 1. 83) aufgeführt.

Die Hühnertuberkulose kommt außer bei Hühnern bei Fasanen, Perlhühnern, Truthühnern, Pfauen und Tauben vor, seltener bei Schwimmvögeln. Die spontane Tuberkulose der Papageien dagegen scheint nach den bisherigen Untersuchungen meist Säugetiertuberkulose, seltener Geflügeltuberkulose zu sein. Auch bei Gauklern ist das spontane Vorkommen sowohl der Säugetier- als auch der Geflügeltuberkulose festgestellt worden (L. Rabinowitsch, DmW. 04. 1675). Die Tuberkulose der Hühner ist zumeist eine abdominale und wird mit der Nahrung übertragen, wenn sie durch den Kot kranker Hühner infiziert ist, mit dem in gewissen Stadien der Krankheit, wo die Solitärfollikel und namentlich die Peyerschen Haufen geschwürig zerfallen sind, große Mengen von Hühner-Tb. ausgeschieden werden. (L. Rabinowitsch schreibt den Mäusen und Ratten eine wichtige Rolle bei der Verbreitung der Hühnertuberkulose zu, da sie mehrere solcher aus verseuchten Ställen stammender Nager mit ihr infiziert gefunden hat.) Die Hühner lassen sich nur wieder mit Hühner-Tb. infizieren, die Säugetiertuberkulose haftet bei ihnen überhaupt nicht. Von den üblichen Versuchstieren sind Kaninchen empfänglich, leichter bei Fütterung als bei subkutaner Infektion, Mäuse sterben mit Affektionen, die an die der Lepra des Menschen erinnern, Meerschweinchen dagegen reagieren weniger, meist nur mit lokalen Eiterherden, ausnahmsweise sterben sie, und zwar dann an Giftwirkung. Für das Rind sind die Hühner-Tb. nicht ganz unschädlich; eingespritzt unter die Haut machen sie heftige Reizerscheinungen (Fieber, Eiterungen). Auf künstlichen Nährböden sind die Hühner-Tb. etwas leichter zum Wachsen zu bringen als die der Säugetiertuberkulose, vorausgesetzt, daß der Nährboden Glyzerin enthält, das hier viel notwendiger ist als für die Säugetier-Tb. Der geeignetste Nährboden ist Blutserum mit 2,5 % Glyzerin. Im übrigen lassen sich die Unterschiede, wie folgt, zusammenfassen:

Digitized by Google

	Hühner-Tb.	Säugetier-Tb.
Ausstriche aus Glyzerinserumkulturen:	Stäbchen leicht verteilbar, darum über das Gesichtsfeld zerstreut; sie haben gleichmäßige Gestalt und nehmen den Farbstoff gleichmäßig auf	Stets in Haufen gruppiert; unterschiedlich in der Gestalt und in der Fähigkeit den Farbstoff aufzunehmen (bei Perlsuchtbaz. ausgesprochener als bei menschl. Tb.)
Aussehen in älteren und bei 45 bis 50° gewachsenen Kulturen:	Neigung zur Bildung von kolbenförmigen und verzweigten, zu Keulen- und Hantelformen (echte Verzweigungen nicht beobachtet)	Ebenfalls Pleomorphismus
Im Tierkörper:	Die größten Schwankungen in Größe und Gestalt	Weniger große Schwankungen
Die Kultur aus dem Tierkörper:	Geht in etwa 8 bis 14 bis 21 Tagen an, ausnahmsweise früher; feuchter, schleimiger Belag (in seltenen Ausnahmefällen trocken und faltig); leicht mit der Oese abstreifbar und gleichmäßig in Flüssigkeit verteilbar	Geht in 10 bis 20 Tagen an; trockener, schuppiger Belag
Auf Glyzerinbouillon:	Meist keine Oberflächenhaut	Oberflächenhaut
Geruch:	Nicht so fein wie bei Säugetier-Tb.	Blumenartig
Wachstumsgrenzen:	Zwischen 30 und 43°	Zwischen 30 und 42°
Belag auf Kartoffeln:	Feucht, glatt, schmutzig-grau; Farbe grauweiß, schwarz oder rötlich	Trocken, bröckelig, gefaltet; Farbe grauweiß, schwärzlichgrau, zuweilen gelblich- oder rötlichgrau
Ueberimpfbarkeit:	Noch nach einem Jahr und länger vorhanden	Schon nach 4 bis 5 Monaten schwierig
Abtötung bei 60°:	In 20 bis 30 Minuten	In 15 Minuten

Andere säure-alkoholfeste oder nur säurefeste Bazillen. Die Vermutung, die R. Koch in seiner ersten Veröffentlichung über die Aetiologie der Tuberkulose ausgesprochen hat, daß die Tb. nicht die einzigen Bakterien sein werden, die der Entfärbung mit Säure und Alkohol Widerstand entgegensetzen, ist in der Folge bestätigt worden, zuerst 1885 durch Alvarez und E. Tavel, sowie von Matterstock bei der Nachprüfung des von S. Lustgarten bei der Syphilis als vermeintlichen Erregers beschriebenen Bazillus; sie wurden dabei auf das Vorhandensein von Stäbchen auf der Haut und speziell im Smegma aufmerksam, die die Farbe nach Einwirkung entfärbender Mittel festhielten.

Digitized by Google

Tuberkelähnliche pathologische Veränderungen durch tuberkelbazillenähnliche Stäbchen sahen R. J. Petri, dann L. Rabinowitsch nach Einspritzung verdächtiger Marktmilch und -butter in die Bauchhöhle bei Meerschweinchen entstehen (s. Milch). Fast gleichzeitig fand A. Moeller ähnliche Bazillen auf Timotheegras und anderen Futterkräutern, sowie in den frischen Darmentleerungen von Kühen, Pferden, Ziegen, Schweinen und Mauleseln und unterschied zwei Arten oder Gruppen unter der Bezeichnung Timothee- und Mistbazillen; später berichtete F. Herr (ZfH. 38. 201) über das Vorkommen derartiger Stäbchen auf Timotheesamen und Getreidekörnern, im Heustaub und besonders in Gartenerde. Die Ansicht, Saprophyten könnten in Krankheitserreger übergehen, schien durch solche Befunde gestützt, noch mehr aber durch gelegentliche Beobachtungen von tuberkulösen Erscheinungen mit säurefesten Bazillen bei Poikilothermen, unter denen je ein oder einige Fälle von Tuberkulose beim Karpfen, Frosch, bei Blindschleichen und Schildkröten und die angeblich geglückte Anpassung des echten Tuberkelbazillus an den Froschkörper Aufsehen erregten. Reinigend wirkten hier die Untersuchungen von A. Weber und M. Taute (KGA. Tub.-Arb. 3. 110). Die sogenannten Kaltblüter-Tb. erklärten sie als saprophytische säurefeste Bazillen, die sich vereinzelt häufig im Körper der Poikilothermen finden, ohne sie im geringsten zu schädigen, allerdings ausnahmsweise zu üppigem Wachstum kommen können, wenn durch einen lokalen oder allgemeinen Krankheitsprozeß die Widerstandskraft des Organismus herabgesetzt ist. Demgegenüber hält E. Küster an dem Vorkommen einer spontanen Kaltblütertuberkulose fest; er fand sie bei 1,5 % unter 200 Fröschen (Habil.-Schr. Freiburg i. B. 05).

Die säure-alkoholfesten Bazillen stören beim diagnostischen Nachweis der Tb. im Körper und seinen Se- und Exkreten; denn sie finden sich in fettigen Sekretmassen, die irgendwo im und am Körper vorhanden sind, also im Smegma, von wo aus sie in den Urin gelangen können, ferner in Tonsillar- und in Cerumenpfröpfen (s. S. 359 f.), in gewissen grauweißen Körnchen, die gelegentlich im Sputum erscheinen (bei Bronchitis, A. Moeller), im Inhalt von Lungenkavernen, in den Absonderungen bei Lungengangrän und bei fötider Bronchitis, im fettigen Inhalt von Zysten.

Da viele dieser störenden Bazillen zwar säurefest, aber weniger alkoholfest sind als die Tb., läßt sich durch Anwendung einer richtigen Tb.-Färbung mit zweizeitiger Entfärbung erst in Säure und dann in Alkohol ein Irrtum zumeist ausschließen; wenn noch ein Zweifel besteht, muß man die Kultur und den Tierversuch anschließen.

Für den Tierversuch ist die subkutane Impfung zu wählen; denn bei dieser vermag nach A. Weber kein einziges der bisher bekannten Tb.-ähnlichen Stäbchen ein der Tuberkulose ähnliches Krankheitsbild zu erzeugen. Es kann sich höchstens ereignen, daß das Versuchstier trotz Vorhandenseins von Tb. gesund bleibt, wenn zufällig die Tb. nicht genügend zahlreich und virulent im Impfmaterial enthalten waren; jedenfalls aber wird man nicht Gefahr laufen, eine Tuberkulose zu diagnostizieren, wo keine vorhanden ist. Ueber die Wirkung von 12 Stämmen säurefester Bazillen auf Versuchstiere berichtete A. Aujeszky, C. 36. 415.

Digitized by Google

Die **Smegmabazillen** sind vielfach zu züchten versucht worden, meist mit negativem Erfolg; die aus der primären Aussaat auf festen Nährböden gewachsenen Kleinwesen gehörten zur Gruppe der Xerosebazillen; ein solcher scheint auch der von A. Weber aus 18 Smegmaproben 16mal erhaltene Bazillus zu sein; er war auch nicht von vornherein säurefest, sondern wurde es erst durch Züchtung auf eiweißfreier Nährlösung, der Lanolin zugesetzt worden war. Dagegen hatte A. Moeller Erfolg, als er zufällig Hautepithelien in menschliches Blutserum eingebracht hatte; bei Brütwärme war nach 3 bis 4 Tagen ein Oberflächenhäutchen entstanden, das die fraglichen Bazillen in ganz enormen Mengen enthielt; aus ihm gelang dann die Weiterzüchtung auf festen Nährböden, Glyzerinagar, Kartoffeln, sowie in Milch und Bouillon, die klar blieb und ein Oberflächenhäutchen zeigte. Die unbeweglichen Stäbchen sahen in jungen Kulturen den Tb. täuschend ähnlich, in älteren waren sie plumper und neigten zur Pleomorphie. Die Säurefestigkeit war dieselbe wie beim Tb. und blieb auf allen Nährböden bewahrt (DmW. 02. 466; C. 31. 278).

Gruppe der **Butter-, Milch-, Gras- und Mistbazillen.** Die Stäbchen unterscheiden sich von den Tb. vor allem durch ihr rasches und üppiges Wachstum auf gewöhnlichen Nährböden und meistens durch eine mehr oder weniger starke Bildung von Farbstoff, die auf fetthaltigen Nährböden besonders intensiv ist, z. B. ziegelrot bei Butterbazillen, ockergelb bei Moosbazillen.

Für die Isolierung solcher Bazillen aus Moos und Schlamm bedienten sich A. Weber und M. Taute mit Vorteil der Formalinvorbehandlung nach S. Piatkowski, durch die viele Keime ausgeschaltet wurden, mit folgender Aussaat auf Serum, dem 2% Glyzerin vermischt mit Malachitgrün Höchst Nr. 120 im Verhältnis 1 : 500 zugesetzt waren, um die Entwicklung der durch Formalin nicht abgetöteten anderen Keime zu verhindern.

S. Piatkowski mischt eine kleine Menge des bazillenhaltigen Materials mit 10 ccm Wasser oder Bouillon. Nach Zusatz von 2 bis 3 Tropfen Formalin wird das Reagenzglas zugepfropft und durchgeschüttelt, nach ½ Stunde eine Abimpfung auf geeigneten Nährböden gemacht und das jede Viertelstunde wiederholt. In einer oder einigen Proben soll man dann Reinkulturen des gesuchten säurefesten Bazillus erhalten (DmW. 04. 878).

Die Butter-, Gras- u. s. w. Bazillen sind für Tiere nicht infektiös, sie wirken nur pathogen als Fremdkörper, wenn sie zusammen mit Fett (Butterfett) in die Bauchhöhle eingespritzt werden. Dann kommt es zu Peritonitis mit Schwartenbildung, bei Einführung größerer Mengen zu Knötchenbildung auf der Serosa des Darms und des Netzes, mitunter auch zu ausgedehnten Nekrosen und cirrhotischen Veränderungen der Leber unter starker Vermehrung der Bazillen. Im allgemeinen aber ist für die krankhaften Veränderungen und ihren Verlauf charakteristisch, daß sie nicht fortschreiten, sondern im Gegenteil sich allmählich wieder zurückbilden (KGA. Arb. 19. 251); doch wird auch über tödlichen Ausgang der Impfung von Rindern mit Timotheebazillen berichtet.

Es sei hier noch der von A. Moeller mitgeteilte Befund ange-

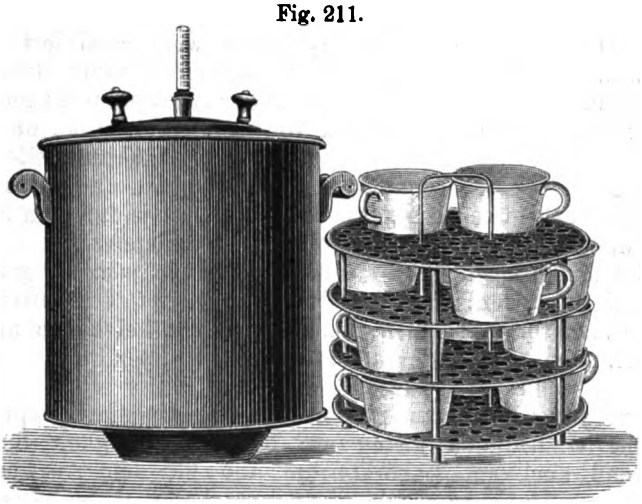
Digitized by Google

fügt, daß in ganz ähnlicher Weise menschliche Tb. beim Kalb wirkten; sie vermochten bei diesem Tier ebensowenig wie Pseudo-Tb. perlsuchtähnliche Erscheinungen hervorzurufen; aber mit Butter zusammen eingespritzt, machten sie dieselben Krankheitserscheinungen wie Pseudo-Tb. mit Butter (DmW. 02. 484).

Der Nachweis von Tuberkelbazillen im Auswurf.

Vorbereitung des Auswurfs. Nach R. Koch hat man die Teile des Sputums auszuwählen, die von der erkrankten Lunge abgesondert werden, also die zusammengeballten gelblichen Klumpen, die oft nur vereinzelt in der schaumigen, schleimigen Flüssigkeit schwimmen, oft auch den größten Teil des Auswurfs ausmachen. Aus

Fig. 211.



diesen gelblichen, äußerst zähen Massen wird mit dem Skalpell oder einer schneidenden Platinnadel ein solcher Ballen an den Rand der Schale befördert, ein Stückchen davon losgelöst und an der Innenwand des Gefäßes emporgezogen. Hier läßt es sich weiter zerteilen; schließlich wird ein gleichmäßig dünner Ausstrich auf Deckgläschen angelegt. An Aktinomyzesklümpchen erinnernde talgartige Kügelchen hat E. Bertarelli (C. 34. 411) einmal im Auswurf beobachtet, die bei der färberischen Untersuchung Zooglöen von Tb. darstellten.

M. Dahmen hat folgendes Verfahren angegeben (MmW. 91. 667):

Einstellen des Auswurfs für etwa 15 Minuten in den Dampftopf, kleinere Mengen in einem Reagenzglas ins siedende Wasserbad (direktes Kochen empfiehlt sich nicht, weil dabei ein feineres, schwerer absetzbares Koagulum gebildet wird).

Abgießen des opaleszierenden, milchig getrübten flüssigen Teiles vom Bodensatz.

Den krümligen Niederschlag in einer Reibschale fein verreiben, und daraus Ausstrichpräparate fertigen. Die Tb. sind dann gleichmäßig verteilt.

Nachdem sich herausgestellt hat, daß die Tb. in der Siedehitze unter den angegebenen Bedingungen nicht im mindesten in ihrer Färbbarkeit beeinträchtigt werden, wird bei mir kein Auswurf mehr frisch untersucht; die Präparate werden aus dem in der Hitze stehenden

Digitized by Google

Niederschlag ausgestrichen. Verreibung im Porzellan- oder Achatmörser braucht nur gemacht zu werden, wenn sich in den ersten entnommenen Teilchen keine Tb. haben finden lassen, oder wenn man eine Zählung der Tb. in den Gesichtsfeldern vornehmen will.

Die Dampfdesinfektion des Auswurfs ist das sicherste Mittel zu seiner Unschädlichmachung. Sie ist mit allem Nachdruck zum mindesten von den Krankenanstalten zu fordern, nur dadurch kann der Gefahr der Verstreuung von Krankheitskeimen wirksam begegnet werden. Nicht bloß der Tb.-haltige, sondern überhaupt jeder aus einem Krankenzimmer kommende Auswurf soll täglich im Dampf desinfiziert werden. In den Wohnungen genügt die Einstellung in einen Kartoffeldämpfer. Im Krankenhaus muß ein größerer Sterilisator vorhanden sein, für kleinere Verhältnisse eignet sich ein Topf der Fig. 211, der auf jeden Herd gestellt werden kann. Die erste Anregung dazu hat M. Kirchner (C. 9. 5) gegeben.

Spuckschalen habe ich aus Blech weiß emailliert herstellen lassen; zwanzig finden in einem passenden Einsatz Platz. Ihre Entleerung und Reinigung läßt sich, da der Auswurf nicht mehr fadenziehend, zäh und klebrig, dagegen vollkommen steril ist, ohne weitere Vorsichtsmaßregeln mit Leichtigkeit an jeder geeigneten Stelle (Ausguß) vornehmen. Die Schalen sind dann natürlich auch außen keimfrei und können anstandslos überall hingestellt werden, ohne daß man befürchten muß, infektiöse Teilchen irgendwohin zu verschleppen.

Nachdem die Speigefäße sterilisiert sind, müssen sie ganz gründlich gereinigt werden, damit nicht Teilchen mit Tb. haften bleiben. Es könnte sich sonst ereignen, daß einmal Tb. bei einem nichttuberkulösen Kranken nachgewiesen würden.

Anfertigung der Ausstriche. Von diesem Gesichtspunkte aus kann nicht eindringlich genug auf die Notwendigkeit hingewiesen werden, daß auch im Laboratorium alle mit dem Auswurf in Berührung gewesenen Gegenstände, wie Spuckschalen, Reibschalen, Pistille, Platindrähte, Skalpelle, Objektträger, Deckgläser u. s. w. durch Abglühen oder Auskochen mit Sodalösung gereinigt werden. Objektträger und Deckgläser sollen überhaupt nur neu genommen werden. Aus demselben Grunde soll man auch nicht in Schälchen färben, sondern die Farbflüssigkeit aus Pipetten aufträufeln, ohne mit dem Präparat in Berührung zu kommen.

Die Ausstreichung geschehe nicht zu dick. Die beim Kochen entstehenden Krümelchen lassen sich leicht mit der Platinnadel ausbreiten.

Objektträger sind handlicher als Deckgläschen. Die Ausstriche lassen sich auf ihnen leichter in Form eines Buchstabens oder einer Ziffer machen, was zu empfehlen ist, weil die Bezeichnung der Präparate dadurch am einfachsten und sichersten erfolgt.

Wieviel Präparate sollen angefertigt werden? In der Regel genügt eines, namentlich wenn ein Sedimentierungsverfahren zu Hilfe genommen wurde, und wenn der Auswurf desselben Kranken voraussichtlich wiederholt zur Untersuchung kommen wird.

Färbung. Man färbt mit der Karbolfuchsinlösung nach Ziehl-Neelsen oder mit Karbolglyzerinfuchsin (s. S. 44).

Digitized by Google

Die von G. E. v. Rindfleisch eingeführte Erwärmung während der Einwirkung der Lösung kürzt den Vorgang bedeutend ab. Deckgläser werden, mit einer Cornetschen Pinzette gehalten, entweder einzeln über der Flamme erwärmt (s. Fig. 212) oder dazu auf mein Färbegestell (s. Fig. 23, S. 17) gelegt; Objektträger finden bis zu 6 Stück darauf Platz. Die unverwechselbar signierten, mit der Farblösung reichlich bedeckten Gläser müssen möglichst wagrecht liegen. Dann wird die Flamme einigemal unter ihnen hin und her bewegt, bis leichte Dämpfe aufsteigen, hierauf läßt man die nicht allzu heiß gewordene Farbflüssigkeit noch einige Minuten auf die Präparate wirken; sollte sie vom Rand her zu rasch eintrocknen, muß neue zugegeben werden.

Nach etwa 2 bis 3 Minuten folgt Abspülung mit Wasser.

Schnittpräparate vertragen eine derartige Erwärmung nicht; man färbt sie 1/4 bis 1/2 Stunde oder noch länger im Brütschrank oder bei Zimmerwärme.

Entfärbung und Nachfärbung. Beide müssen einzeln vorgenommen werden.

Die gebräuchlichste Art ist die Entfärbung mit verdünnter Mineralsäure, sodann mit verdünntem Alkohol, worauf mit Methylenblau- oder Malachitgrünlösung nachgefärbt wird.

Die Schwefelsäure eignet sich zur Entfärbung am besten, am wenigsten schonend wirkt Salpetersäure (E. Czaplewski). Gewöhnlich nimmt man eine Verdünnung von 1 Teil Säure mit 4 Teilen Wasser. Bei der Bereitung muß die Schwefelsäure ins Wasser gegossen werden; wenn man umgekehrt verfährt, läuft man Gefahr, von den durch die rasche Erhitzung explosionsartig herausgeschleuderten Tropfen verletzt zu werden.

In der verdünnten Säure bleiben die Präparate allerhöchstens 2 Sekunden, d. h. sie werden flüchtig, bloß 1- oder 2mal hineingetaucht.

Unmittelbar danach spült man die Säure in verdünntem (60proz.) Alkohol ab.

Die verdünnte Säure und der verdünnte Alkohol werden in zwei becherartigen, standsicheren Gefäßen von etwa 50 bis 80 ccm Rauminhalt bereitgestellt. Für Objektträger wähle man passende Glasgefäße mit ovalem Lumen in einem Holzklotz feststehend.

Wasserspülung zwischen den beiden Zeiten ist durchaus zu unterlassen. Denn durch die Säure ist die einfach saure Farbverbindung in eine dreifach saure, in Alkohol löslichere Verbindung übergeführt worden; Wasserbehandlung würde die in Alkohol schwerer lösliche, einfach saure Verbindung wenigstens teilweise wiederherstellen.

Im verdünnten Spiritus werden die Präparate so lange gebadet, bis sie höchstens noch einen roten Anflug zeigen. Dicker aufgetragene Teilchen bleiben rot. Man kann nun zwar nochmals in Säure tauchen und in Spiritus nachspülen, wird dadurch aber die Tb.-Färbung eher schädigen als das Aussehen des Präparats wesentlich fördern. Darum soll eben von Anfang an in dünner Schicht ausgestrichen werden.

Digitized by Google

Manche belieben eine Vereinigung von Alkohol und Säure; am meisten hat sich dazu der salzsaure Alkohol (3 Teile Säure in 100 Teilen Alkohol absolut.) nach Gram-Günther eingeführt. Die Präparate sollen darin eine Minute lang hin und her und auf und ab bewegt werden. Wie gesagt, ist die Entfärbung in zwei Zeiten mehr zu empfehlen; man hat sie besser in der Hand, weil man die Säure ganz kurz und den Alkohol beliebig lang einwirken lassen kann.

Die aus dem Alkohol genommenen Präparate werden mit Wasser gespült. Nötig ist das nicht, man kann gleich die Gegenfarbe aufträufeln.

Die Methylenblaulösung — wer Grün lieber sieht, nehme wäßrige Malachitgrünlösung — soll nicht länger als 15 bis 30 Sekunden wirken, weil sonst die rote Farbe möglicherweise aus den Tb., namentlich vereinzelten, schwach gefärbten, verdrängt wird. Es wurde darum von der Verwendung von Loefflers Blau abgeraten; ich habe noch keinen Nachteil von ihm gesehen.

Vereinigung von Entfärbung und Nachfärbung hat zuerst B. Fraenkel versucht und unabhängig von ihm Gabbet etwas anders ausgeführt.

Die mit Karbolfuchsin heiß gefärbten und mit Wasser abgespülten Präparate werden für eine Minute in folgende Lösung getaucht:

25proz. Schwefelsäure (= 1 + 3 dest. Wasser);

Methylenblaupulver so viel, daß eine gesättigte Blaufärbung entsteht.

Dann werden sie mit Wasser gehörig abgespült, zwischen Filtrierpapier getrocknet und mit der Immersion untersucht.

Da die Methode gute Bilder liefert, hat sie viele Anhänger erworben. Wer einwandfreie Ergebnisse haben will, muß Entfärbung und Nachfärbung trennen. Die paar Handgriffe mehr fallen wahrhaftig nicht in die Wagschale. Man muß die Bedenken von P. Guttmann und E. Czaplewski teilen, daß beim Gabbetschen Verfahren die Schönheit des Präparats im allgemeinen leidet, daß man die Beurteilung der Wirkung weniger in der Hand hat, und daß manche Tb. durch Entfärbung verloren gehen können, was bei geringer Zahl einen negativen Ausfall geben kann.

Der hauptsächlichste Einwand gegen das Gabbetsche Verfahren ist aber der, daß es eher als jedes andere Smegmabazillen zur Darstellung bringen kann, denn es fehlt der Alkohol. Es sind auf diese Weise tatsächlich schon verhängnisvolle Irrtümer vorgekommen, indem z. B. auf Grund der falschen mikroskopischen Diagnose bei der Urinuntersuchung nach Gabbet ein operativer Eingriff wegen vermeintlicher Nierentuberkulose erfolgte, die, wie sich dabei herausstellte, nicht vorhanden war.

Schließlich wird das Präparat mit einem Wasserstrahl abgespült, zwischen mehrfachen Lagen Filtrierpapier getrocknet (s. S. 47 f.) und mit der Oelimmersion untersucht. Ein Hilfsmittel ist der bewegliche Objekttisch, ein großer oder kleiner Kreuztisch, mit dem man jede einzelne Stelle zu Gesicht bekommt und sie jederzeit wiederfinden kann, wenn man die einschlägigen Stände der Noniusskalen aufgeschrieben hat. Diese zeitraubende Durchmusterung ist nur dann nötig, wenn man bei begründetem Verdacht keine Tb. findet. Für solche Fälle ist außerdem noch ein anderes Sedimentierungsverfahren mit folgender Filtration (s. S. 398) anzuwenden.

Zusammenfassung. Einstellung des Auswurfs in den Dampftopf für 15 Minuten.

Ausstreichung eines Krümelchens auf einen Objektträger oder ein Deckglas in möglichst dünner Schicht mit dem Platindraht, zur Unterscheidung in Form eines Buchstabens oder einer Zahl.

Digitized by Google

Gehörig lufttrocken werden lassen.

Mit einer Pinzette gefaßt 3mal durch die Flamme ziehen.

Wenn mehrere Proben gleichzeitig zu färben sind, auflegen auf mein Stativ.

Karbolfuchsin aufträufeln, so daß das Glas ganz bedeckt ist.

Erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen.

Die warme Farblösung 2 bis 3 Minuten wirken lassen.

Abspülen des überschüssigen Farbstoffs.

2mal rasch in 20proz. Schwefelsäure untertauchen.

In etwa 60proz. Spiritus baden und schwenken.

Methylenblaulösung aufträufeln und 15 bis 30 Sekunden wirken lassen.

Abspülen mit Wasser.

Trocknen zwischen Filtrierpapier. Objektträger werden beiderseits getrocknet; auf die gefärbte Schicht kommt ein Tropfen Immer-

Fig. 212.

sionsöl. Deckgläser werden auf der freien Seite getrocknet und mit dem an der Präparatseite anhängenden Wasser auf einen Objektträger gelegt.

Untersuchung mit der Oelimmersion bei vollständig geöffnetem Kondensor des Abbeschen Beleuchtungsapparates.

Fig. 212 zeigt die sämtlichen Gebrauchsgegenstände der Reihe nach aufgestellt von der Spuckschale bis zur Schale für das Spülwasser; darüber liegen eine schwarze Glasplatte, Objektträger und Fließpapier, worauf die Spritzflasche steht.

Ist alles wohl gelungen, dann sieht man bei richtiger Einstellung den blauen Untergrund. Tb. erkennt man auf den ersten Blick an ihrer gesättigt roten Färbung. Bezüglich ihres Aussehens vergl. Taf. IV, Fig. 23 und 21. Manchmal kommen ganz kurze, in Häufchen liegende rote Stäbchen vor, die kaum größer als Influenzabazillen sind; sie sind zuerst von v. Nießen (ZfH. 50. 540) gewürdigt und von C. Spengler als Tb.-Splitter beschrieben worden.

Digitized by Google

Zweifel rufen bei weniger Geübten Dinge hervor, die trotz Säure und Spiritus noch rot geblieben sind. Selbst andersartige Bakterien, Kokken wie Stäbchen, die sich in einem längere Zeit stehen gebliebenen Auswurf, besonders im Sommer reichlich angesiedelt haben, behalten mitunter eine blaßrote Färbung, wenn die Schichte zu dick aufgetragen oder die Entfärbung nicht sorgsam geleitet war; schon diese matte Tinktion spricht, abgesehen von der Form der Bakterien, gegen Tb. Wo angetrocknete Flüssigkeitschichten oder zellige Gebilde nahe aneinander liegen und sich mit ihren Grenzen berühren, bleibt auch oft ein strichförmiger roter Schimmer bestehen, der bei anderer Einstellung des Mikroskops verschwindet. Zur Verwechslung haben ferner Fettsäure-, Cholesterin- und andere Kristalle, insonderheit die ganz kleinen rhombischen, Veranlassung gegeben, wenn ihre Begrenzungen bei gewisser Einstellung rötlich schienen; ja selbst schwarze, strichförmige Gebilde im Präparat, die oft nicht größer als Tb. sind, wurden schon dafür angesehen.

Wer seiner Sache nicht ganz sicher ist, der sehe zum Vergleich ein Präparat mit gut gefärbten Tb. an, und wer längere Zeit trotz eifrigen Suchens nichts findet und glaubt, die Schuld einer mangelnden Technik oder einer ungenügenden Beschaffenheit der Farblösung u. s. w. beimessen zu dürfen, der nehme einen Tb.-haltigen Auswurf, der für derartige Zwecke im Dampfe sterilisiert und zu 1/2 % mit Karbolsäure versetzt, vorrätig sein möge, und mache die ganze Methode mit ihm nochmals durch; es bietet dies gleichzeitig Gelegenheit, die sehr langsam schwindende Färbbarkeit und Gestalt also aufbewahrter, abgetöter Tb. kennen zu lernen.

Endlich sei noch eine ganz verfeinerte Methode aufgeführt, die ihren Ursprung der Sorge verdankt, es möchten durch die Säure einzelne Tb. entfärbt werden. E. Czaplewski benutzte die stärker lösende und ausziehende Kraft von Fluorescein in Verbindung mit Methylenblau gegenüber dem Fuchsin. Eine Gegenfärbung mit Methylenblau ist auch hier noch erforderlich; die konzentrierte alkoholische Lösung erwies sich in diesem Falle geeigneter als die wäßrige (Jahrber. 6. 267):

1. Fluoresceinmethylenblaulösung.
   Gelbes Fluorescein (Grübler, Leipzig) 1,0 in Alkohol 100,0.
   1 bis 2 Tage stehen lassen, dann vom Bodensatz abgießen;
   hierauf Zugabe von Methylenblau 5,0;
   Schütteln; 1 Tag stehen lassen und vom Bodensatz abgießen.
2. Alkoholische Methylenblaulösung, 5proz.
   Beim Gebrauch vom Bodensatz abheben oder abgießen, allenfalls filtrieren.
3. Ausführung:
   Färbung mit warmer Karbolfuchsinlösung.
   Abtropfenlassen des Farbstoffs ohne Wasserspülung;
   Eintauchen in Nr. 1 6- bis 10mal hintereinander;
   Eintauchen in Nr. 2 10- bis 12mal;
   Abspülen mit Wasser.

Wenn danach die Präparatschichten, die sehr dünn sein müssen, noch zu rot sind, werden beide Farbbäder wiederholt. Das Baden geschieht dergestalt, daß man eintaucht und die Flüssigkeit immer wieder langsam über die Oberfläche des Deckglases abfließen läßt. Ob die Methode auch andere säurefeste Bazillen in die Erscheinung treten läßt, ist meines Wissens noch nicht untersucht worden; wahrscheinlich ist es. Für die Praxis hat es deshalb bei der alten Methode zu bleiben.

Mengenbestimmung der Tuberkelbazillen. Sie gelingt mit annähernder Richtigkeit nur in einem zu einheitlicher Masse verarbeiteten Auswurf. Es eignet sich dazu der verriebene Bodensatz, der bei der Dampfdesinfektion nach M. Dahmen ausgefallen ist, oder ein anderes der nachher zu beschreibenden Homogenisierungsverfahren.

Digitized by Google

Sehr peinlich ging G. H. F. Nutall zu Werke. Die Ausführung seiner Methode erfordert derartig mannigfaltige, nur für diesen Zweck dienende Einrichtungen, daß ihre Beschreibung innerhalb unseres Rahmens zu weit führen würde. Sie findet sich Z. f. klin. Med. 21. 241 und r. C. 11. 479.

A. Preyß legte zur Zählung der Tb. eine Glasscheibe mit eingeritztem Quadrat ein, dessen Größe einem bekannten Bruchteil des Deckglases entsprach (MmW. 91. 418).

Eine absolute Zahlenbestimmung ist für gewöhnlich nicht nötig, es genügt die Angabe, wieviel Tb. durchschnittlich im Gesichtsfeld vorhanden sind. Nach diesem Grundsatze hat G. Gaffky folgende vielbenutzte Skala aufgestellt (KGA. Mittl. 2. 126):

1 =	im ganzen Präparate nur	1 bis 4 Bazillen.
2 =	durchschnittlich auf mehrere Gesichtsfelder erst	1 Bazillus.
3 =	„ in jedem Gesichtsfelde etwa	1 Bazillus.
4 =	„ „ „ „ „	2 bis 3 Bazillen.
5 =	„ „ „ „ „	4 „ 6 „
6 =	„ „ „ „ „	7 „ 12 „
7 =	„ „ „ „	ziemlich viele „
8 =	„ „ „ „	zahlreiche „
9 =	„ „ „ „	sehr zahlreiche „

10 = in jedem Gesichtsfelde enorme Mengen von Bazillen.

Um bei etwaigen Bestimmungen nicht an das Nachschlagen in dieser Tabelle gebunden zu sein, hat Ritter (DmW. 93. 588) zur Annahme einer Methode geraten, die ähnlich, wie bei der Bestimmung der Sehschärfe üblich, in einer einfachen Bruchformel Aufschluß über den gefundenen Tb.-Gehalt gibt: Den Zähler bildet die Menge der gefundenen Bazillen, den Nenner die Zahl der Gesichtsfelder; $\frac{1}{I}$ bezeichnet einen Bazillus in jedem Gesichtsfelde, $\frac{1}{IV}$ einen Bazillus in 4 Gesichtsfeldern u. s. f.

Noch genauere Aussagen würde eine Bezeichnung machen, die E. Czaplewski (Jahrber. 92. 660) vorschlug: In den Zähler kommt die Zahl der Bazillen, in den Nenner mit arabischen Ziffern die Zahl der Gesichtsfelder. Eine römische Ziffer soll die Zahl der ganzen Präparate ausdrücken, wenn der Bazillengehalt überhaupt ein sehr geringer war.

Es wäre also:

$\frac{6}{1}$ = 6 Bazillen in 1 Gesichtsfeld.

$\frac{\infty}{1}$ = unendlich viole Bazillen in 1 Gesichtsfeld.

$\frac{1}{5}$ = 1 Bazillus in 5 Gesichtsfeldern.

$\frac{2}{I}$ = 2 Bazillen in einem ganzen Präparate,

$\frac{1}{VI}$ = 1 Bazillus in 6 Präparaten.

$\frac{0-6}{1} D = \frac{3}{1}$ würde den Durchschnitt aus dem gefundenen Minimum und Maximum aus einer Anzahl von Gesichtsfeldern ausdrücken. Derartige Angaben sind nur für je eine bestimmte Linsenkombination richtig, da beim Wechsel der Objektive, Okulare oder Tubuslänge der Dchm. des Gesichtsfelds anders wird.

Wenn in 1 oder 2 Präparaten Tb. nicht gefunden werden konnten und der Verdacht auf Tuberkulose besteht, muß man in Zwischenräumen andere Sputa derselben Person untersuchen. In jedem Falle wird man eines der nachstehenden Verfahren der Homogenisierung mit folgender Filtration durch Asbestfilter anwenden und außerdem noch ein Anreicherungsverfahren vorangehen lassen. Als letztes Mittel ist der Tierversuch heranzuziehen.

Digitized by Google

Homogenisierung mit Chemikalien und Sedimentierung. Der Gedanke, die Bestandteile des Auswurfs in lösliche Form überzuführen, um spärlich vorhandene Tb. im Bodensatz zu finden, stammt von Ph. Biedert (BkW. 86. 705; 87. 30; 91. 31). Er kochte etwa 15 g Auswurf mit 30 ccm Wasser und 4 bis 8 Tropfen Kali- oder Natronlauge; H. Mühlhäuser wendete das Verfahren auch bei geringeren Mengen an und setzte weniger und verdünnte Lauge zu, auf 1 bis 3 g Sputum die 6- bis 8fache Menge einer 2proz. Lauge, schüttelte und kochte; E. Czaplewski neutralisierte danach die Lauge mit Essigsäure, damit sie nicht durch nachträgliche Wirkung während des Sedimentierens oder Zentrifugierens die ohnehin angegriffenen Tb. noch mehr schädige. Nach vergleichenden Untersuchungen von H. Beitzke (HR. 02. 1), Stephanie Rosenblatt (HR. 04. 670) mit verschiedenen anderen zum gleichen Zweck angegebenen Verfahren bekommt man auf diese Weise die besten Ergebnisse. H. Beitzke hat das Ganze folgendermaßen zusammengefaßt:

Der Auswurf wird mit etwa der 4fachen Menge 0,2proz. Natronlauge in einer mit Gummistopfen verschlossenen Flasche recht energisch 1 Minute lang durchgeschüttelt; wenn danach noch gröbere Flocken sichtbar sind, setze man nach und nach mehr Lauge zu, zwischendurch immer kräftig schüttelnd; gewöhnlich reicht die 8fache Menge Lauge aus, in einzelnen Fällen muß man bis zur 12fachen gehen. Nach längstens 5 Minuten ist das Sputum ganz dünnflüssig geworden.

Eingießen in eine Kochschale und unter Umrühren zum Sieden erhitzen. Die Flüssigkeit darf nicht im geringsten schleimig sein.

1 bis 2 Tropfen Phenolphthaleinlösung zugeben.

5proz. Essigsäure tropfenweise einträufeln, bis die Rotfärbung fast ganz verschwunden ist. Dabei muß stark umgerührt werden, sonst gibt man leicht zuviel Essigsäure zu und es fällt dann massenhaft Muzin aus, wodurch die Probe verdorben ist.

Im Spitzglas sedimentieren lassen oder ausschleudern.

Die Sedimentierung oder Ausschleuderung wird beschleunigt, wenn man das spezifische Gewicht der Flüssigkeit durch Zusatz von Alkohol verringert (L. Kamen, r. C. 13. 733); J. Strasburger fand dazu die doppelte Menge 96proz. Alkohols geeignet (MmW. 00. 533).

Alkalische Erden anstatt Alkalien hat A. Nebel auf den Rat von F. Hofmann benutzt, um Eiweiß und Schleim in lösliche Verbindungen überzuführen, ohne dabei die Tb. zu schädigen (AfH. 47. 57). Er nahm gesättigte Kalklösung aus gelöschtem Weißkalk oder Aqua calcis des Arzneibuchs, schüttelte damit das Sputum kurze Zeit kräftig und filtrierte durch Kieselgurfilter, da ihm das bisherige Sedimentierungsverfahren unzulänglich erschien und die Zentrifuge zu wenig Keime im Bodensatz lieferte (s. S. 31). Anstatt der üblichen Filterkerzen nahm er mangels eines Druckapparates Maaßensche Filterbecher von etwa 15 bis 20 ccm Inhalt, diese wurden in Gipspulver gesetzt, das die Flüssigkeit durch das Filter allmählich an sich sog, worauf der Rückstand untersucht wurde.

Die Filtration durch Asbest unter etwa 2 Atmosphären Druck gestattet mehr verflüssigtes Sputum zu verwenden. Der Rückstand bleibt zum größten Teil in den obersten Schichten und läßt sich mit ihnen abheben (s. S. 36), wenn man auf die fertig gestopfte Asbest-

Digitized by Google

masse ein Scheibchen Filtrierpapier gelegt und darauf noch eine 1 bis 2 mm hohe Lage Asbest gestopft hat. Wir konnten auf diese Weise wiederholentlich Tb. finden, wo auch nach Homogenisierung in vielen Präparaten keine hatten gefunden werden können.

Anreicherungsverfahren und Züchtung. Die Anreicherung bezweckt, die Tb. auf Nährböden zur Vermehrung zu bringen, ohne auf die Reinkultur besonderes Gewicht zu legen. W. Hesse hat dazu erst auf Glyzerinagar mit Nährstoff Heyden, später auf einfachen Glyzerinwasseragar von ganz schwach alkalischer Reaktion ausgesät und nach 1 bis 2 Tagen Klatschpräparate angelegt (ZfH. 31. 502; C. 35. 386). C. Fraenkel suchte die Begleitbakterien dadurch auszuschalten, daß er den Auswurf einige Wochen in Glyzerin konservierte (HR. 00. 628). Allgemeine Anerkennung ist dem Hesseschen Nährboden nicht zu teil geworden.

Die Abtötung der Begleitbakterien erstrebte C. Spengler durch Formalin in einer Anordnung, bei der die Tb. möglichst wenig geschädigt wurden:

Auf den Boden einer Petrischale wird ein Blatt gewöhnliches oder gehärtetes Filtrierpapier gelegt; darauf breitet man etwa 3 ccm Sputum in einer Dicke von 2 bis 2½ mm aus; man kann außerdem eine dünne Schicht Pankreatin aufstreuen, damit die die Entwicklung der Tb. hemmenden schleimigen Massen verdaut werden.

Der Schalendeckel wird mit Filtrierpapier ausgekleidet, mit 3 bis 5 Tropfen Formalin beträufelt und auf die Schale gestülpt.

Die Schale wird oben auf den körperwarmen Brütschrank, wo eine Temperatur von etwa 20 bis 25° herrscht, für ½ bis 3 Stunden (je nach der Dicke der Sputummasse) gestellt. Danach sind die Sputumbakterien abgetötet.

Dann entnimmt man von den feuchten Teilen des Sputums (in den trockenen sind die Begleitbakterien nicht sicher abgetötet) und sät auf Blutserum derart aus, daß die Sputumteile an der Glaswand haften und das Kondenswasser berühren; oder zunächst auf Glyzerinagar und, wenn sich mikroskopisch Tb. gezeigt haben, auf Blutserum (ZfH. 42. 90; 51. 335).

Bei Verwendung eines Agars mit Nährstoff Heyden und Somatose, den Spengler ursprünglich angegeben hatte, verzeichneten A. Dworetzky (C. 37. 626), L. Jacqué (C. 36. 461), G. Werner (AfH. 50. 305) ungenügende Ergebnisse. Weber und Taute (KGA. Tub.-Arb. 3. 128) dagegen hatten bei der Züchtung von Tb. aus dem Kaltblüterorganismus mit dem Verfahren bei entsprechend verkürzter Dauer der Formalineinwirkung (¾ bis 1½ Stunden) und Aussaat auf Glyzerinserumplatten guten Erfolg.

Die Reinzüchtung der Tb. aus dem Auswurf kann auf diese Weise gelingen, noch einfacher und wohl auch sicherer dadurch, daß man die außen am Sputum haftenden Keime in der Flamme absengt. Zu dieser von C. Spengler angegebenen „Sengzüchtung“ eignen sich bloß geballte Sputa:

Ein Ballen nicht kleiner als eine kleine Haselnuß, wird auf einer starken, großen Oese aufgewickelt und der Gasflamme genähert oder

Digitized by Google

direkt in sie hineingeführt, wobei man unter rotierenden Bewegungen darauf zu achten hat, daß das Sputum nicht von der Oese abgleitet. Wenn sich das Sputum 2- bis 3mal kurz aufgebläht und an der Oberfläche gebräunt und gefältelt hat, geht man mit ihm in ein Serumröhrchen ein und zersprengt erst durch Drücken an der Glaswand mit dem dicken Platindraht die versengte zähe Hülle; danach läßt sich der Kern des Ballens auf der Nährbodenoberfläche ausbreiten; wenn nicht, ist die Sengung zu weit getrieben gewesen (ZfH. 51. 339). Man versuche auch die Aussaat auf Glyzerinkartoffeln (s. S. 384).

Die Züchtung von Tb. aus dem Auswurf ist zuerst von R. Koch erzielt worden; S. Kitasato gab dafür die Anweisung, eine aus den tieferen Atemwegen stammende Flocke in mindestens 10mal gewechseltem sterilem Wasser zu waschen, im letzten Schälchen unter Wasser zu zerreißen und ein aus der Mitte entnommenes Teilchen auf Blutserum auszusäen (ZfH. 11. 442).

Tierversuch. Ist es nicht gelungen, mikroskopisch auf die eine oder andere Weise Tb. zu finden, besteht aber der Verdacht auf Tuberkulose, dann kommt in letzter Linie der Tierversuch als wichtiges Entscheidungsmittel in Betracht. Man nimmt mittelgroße Meerschweinchen, führt den Sputumballen in eine Hauttasche und verschließt sie; Sh. Delépine empfahl als geeignete Stelle den Unterschenkel. Um etwa vorhandene, störende Begleitbakterien auszuschalten, haben E. Levy und H. Bruns den Auswurf vorher gewaschen und außerdem 10 Minuten auf 60° erwärmt (DmW. 00. 141).

Ein untrügliches Kennzeichen für die angehende Impfung ist die Schwellung der regionären Lymphdrüsen. Nach 2 bis 3 Wochen läßt sich ferner meist etwas Eiter gewinnen, den man färberisch auf Tb. untersucht. Nach 6 Wochen wird das Tier getötet; dann findet man gegebenen Falls die Drüsen verkäst und Tb.-haltig, und die Erkrankung vielleicht schon auf benachbarte innere Organe vorgeschritten.

Nachweis der Tuberkelbazillen in Schnitten. Zur Einbettung eignet sich Zelloidin nicht, weil dabei die färbbaren Teile der Tb. zu sehr leiden. Am besten werden sie bei der Anetholbehandlung behufs Anfertigung von Gefrierschnitten erhalten. Gewöhnlich nimmt man Paraffin.

Bei der Färbung wird die hochgradige Erwärmung, wie sie bei Ausstrichen angewendet wird, durch längere Einwirkung des Farbstoffs bei Zimmer- oder Brütwärme ersetzt. Zur Entfärbung hat man im Interesse der Haltbarkeit der Färbung die Anwendung zu starker Säuren zu vermeiden gesucht. E. Czaplewski nahm die Ebnersche Entkalkungsflüssigkeit, bestehend aus: Kochsalz 0,5; Salzsäure 0,5; Spiritus 100; dest. Wasser 20. Ebenso F. Roloff; er spülte danach mit 70proz. Spiritus, legte die Schnitte auf mehrere Stunden in essigsaure Vesuvinlösung (Kahlbaum), dann in Wasser und 70proz. Spiritus, klebte sie nun auf den Objektträger und färbte weiter nach der Weigertschen Methode mit recht langer Einwirkung des Anilinxylols (r. C. 21. 749).

H. Kühne konnte gänzlich auf die Säure verzichten, wenn er die Schnitte nach Färbung mit Karbolfuchsin (15 Minuten) und Spülung in Wasser und Alkohol in eine konzentrierte Lösung von Malachitgrün in

Digitized by Google

Anilinöl hellster Sorte übertrug; nach mehreren Minuten abspülen in Anilinöl, Terpentinöl, Xylol, Balsam. Bei längerem Verweilen im Terpentinöl verschwindet die Grünfärbung; man kann dann mit Methylenblau nachfärben (C. 11. 756).

Auch die Gramsche Färbung läßt sich verwenden. G. Dreyer empfahl dafür das S. 53 aufgeführte Verfahren unter intensiverer Färbung (bei 37°) als sie für gewöhnliche Bakterien gebraucht wird.

Nachweis von elastischen Fasern. Der Auswurf wird mit etwa gleichen Teilen Kali- oder Natronlauge in einer Abdampfschale gekocht, in ein Petrischälchen gegossen und bei 50- bis 100facher Vergrößerung und enger Blende durchgemustert; verdächtige Teilchen fischt man mit der Platinöse, überträgt sie auf einen Objektträger, deckt ein Deckglas darüber und untersucht mit stärkerem Trockensystem. Man kann auch die Absetzung im Spitzglase abwarten oder ausschleudern. Die vielfach verschlungenen, zierlichen elastischen Fasern, die aus der Lunge stammen, zeichnen sich durch die alveoläre Anordnung aus, die sie von den aus Speiseresten stammenden, gelegentlich im Munde vorkommenden unterscheidet. Zur Sicherheit wird man ein Vergleichspräparat vorrätig halten, das man sich durch ähnliche Behandlung eines Lungenstückchens verschaffen kann.

Ferner können pflanzliche Fasern, Spiralgefäße, etwa aus Schnupftabak, Wolle u. s. w., Zweifel hervorrufen. Zur Unterscheidung hat R. May die Orceinfärbung in der Wärme und Differenzierung mit Salzsäurealkohol verwendet (D. Arch. f. klin. M. 68. 427); J. Witte hat das Verfahren in folgender Weise vereinfacht:

Das Sputum wird in Kalilauge gekocht, aber nicht länger, als zur Lösung unbedingt erforderlich ist.

Zentrifugierung und Anfertigung eines Ausstriches vom Bodensatz. Dreimal durch die Flamme ziehen.

Mit Orceinlösung über der Flamme bis zur leichten Dampfbildung 2 Minuten färben.

Kurz in Salzsäurealkohol tauchen.

Trocknen; Balsam; Untersuchung mit starkem Trockensystem.

Orceinlösung nach Unna-Tänzer: Orcein 1,0; Alkohol abs. 80,0; Aq. dest. 40,0; Ac. hydrochl. conc. 40 Tropfen. (Vgl. S. 54 f.).

Salzsäurealkohol: Ac. hydr. conc. 5; Spiritus 1000; Aq. dest. 250.

Auf diese Weise wurden bei beginnender Lungentuberkulose nach Durchmusterung vieler Präparate noch elastische Fasern gefunden, wo keine Tb. nachzuweisen waren. Witte empfiehlt daher bei negativem Bazillenbefund, diese Untersuchung zu machen (r. C. 32. 503).

Erkennung von Begleitkrankheiten. In erster Linie kommen die Kettenkokken, aber auch alle sonst bei Erkrankungen der Atmungsorgane vorkommenden Erreger in Betracht. Die ersteren machen sich klinisch durch die großzackige Fieberkurve bemerklich, die R. Koch als Streptokokkenfieberkurve (s. S. 334) bezeichnete. Beim Nachweis ist die Möglichkeit, daß sie aus den oberen Luftwegen stammen, auszuschließen.

C. Spengler unterscheidet zwischen Misch- und Begleitinfektion. Bei der Mischinfektion sind die anderen Bakterien mit den Tb. ge-

Digitized by Google

meinschaftlich im Granulationsgewebe vorhanden und lassen sich durch die S. 400 erwähnte Waschmethode nicht von ihnen trennen; bei der Begleitinfektion, wo eine chronische Bronchitis besteht, lassen sich die sekundären Keime von den im Sputumkern allein sitzenden Tb. durch Waschen entfernen (Näheres s. C. 30. 765).

Für die Frage der Zulässigkeit der Tuberkulinanwendung ist ein Einblick in diese Verhältnisse nötig; das Vorhandensein anderer Krankheitserreger und schon die Streptokokkenfieberkurve sind Gegenanzeigen, „weil die in der Reaktion vermehrte seröse Durchtränkung der erkrankten Lunge die weitere Streptokokkeninvasion geradezu begünstigen kann“ (R. Koch, J. Petruschky). Es bleibt der Satz bestehen, daß die noch nicht vorgeschrittenen, von anderen Krankheitserregern nicht begleiteten tuberkulösen Veränderungen die Angriffspunkte für die Tuberkulinbehandlung sind.

Verdauungsorgane.

Mageninhalt kommt als Erbrochenes oder nach Ausheberung zur Untersuchung. Sahli empfiehlt bei letzterer sein Mehlsuppenprobefrühstück auch aus dem Grunde, weil die geröstete Mehlsuppe keimfrei ist und nach der Ausheberung alle möglichen Bakterien zeigt. Die Untersuchung ist je nach der vermuteten Erkrankung nach den für den Stuhl geltenden Regeln anzustellen. In gewissen Fällen kann die mikroskopisch-bakteriologische Durchmusterung Hinweise verschaffen. So hat man in stagnierendem Inhalt den Sarzinen und bei fehlender freier Salzsäure den „langen Bazillen“ Bedeutung beigelegt.

Die **langen Bazillen**, von K. B. Lehmann und R. O. Neumann Bac. gastrophilus genannt, sind zuerst von J. Boas gesehen und von R. Kaufmann und W. Schlesinger gezüchtet worden. Ihren Untersuchungen zufolge haben sie die freie aus Zucker gebildete Säure (Milchsäure), die zu nicht mehr als 6,5 ‰ vorhanden sein darf, zum Gedeihen nötig; bei neutraler Reaktion des Nährbodens wachsen sie nicht mehr (r. C. 36. 259). Sie sind beweglich (JG +). G. Sandberg unterschied zwei Typen, einen mit kürzeren und einen mit langen und sehr langen Stäbchen (r. MmW. 03. 2302). Sie werden nach S. Heichelheim (r. MmW. 04. 1659) am leichtesten in den dem Mageninhalt beigemischten bräunlichen Blutgerinnseln gefunden. Ihr reichliches Vorkommen wird als ein Anzeichen für das Bestehen eines Karzinoms angesprochen.

Bei nicht pylorischen Krebsen fand P. Cohnheim 3 Arten von Geißelinfusorien zusammen mit Amöben, Blut- und Eiterkörperchen und spricht diesen Befund als ein Hilfsmittel für die Diagnostik der Magenkarzinome genannter Art an (DmW. 03. 208).

Darminhalt muß zum Nachweis von Amöben und Infusorien möglichst frisch untersucht werden. Die Entnahme geschieht zu diesem Zweck durch Einführung eines sterilen, nicht zu engen Glasrohrs oder Katheters. P. Cohnheim hat dazu ein katheterähnliches Glasrohr benutzt, das am Ende olivenartig verdickt ist und an der Seite eine ovale Oeffnung trägt; flüssiger Stuhl dringt nach der Einführung ins

Digitized by Google

Rektum von selbst ein, bei festem genügt eine Umdrehung zur Gewinnung einer genügenden Menge (DmW. 02. 362).

Für bakteriologische Untersuchungen gibt es besondere Versandgefäße, kleine Fläschchen mit Stopfen, in dem ein kurzer Löffel befestigt ist. Sie werden in eine passende Blechkapsel mit Deckel und diese in ein Holzgefäß eingesteckt. Um auch Stuhl, der nicht durch Bakterienwucherung verändert ist, zur Züchtung zu bekommen, rate ich außerdem mehrere Zentimeter lange Seidenfäden in ihn einzutauchen und in Chlorkalziumröhrchen mitzuschicken.

Normale Darmentleerungen bieten im gefärbten Präparat ein buntes Durcheinander von Bakterien, meistens Stäbchen, lange und kurze, dicke und dünne in allen möglichen Längen- und Breitenverhältnissen, mitunter gebogen, aber selten Scheinfäden. Und doch ist eine gewisse Gleichmäßigkeit des Befundes nicht zu verkennen. Bei etwas längerer Einwirkung des Farbstoffs (Fuchsin) erscheinen Spirochäten, ähnlich den im Munde vorkommenden, in vereinzelten Exemplaren; sie haben ihren Sitz im Darmschleim und sind deshalb in diarrhoischen Stühlen reichlicher. Nach der Gramschen Färbung stellen sich die meisten Darmbakterien in der Gegenfarbe dar; anderseits sind noch reichlich violette darunter. Im Stuhl des Brustmilchkindes überwiegen nach Th. Escherich die gramgefärbten. Dieser Autor beschrieb seinerzeit*) zwei „obligate Milchkotbakterien“: das Bact. lactis aerogenes, das in den oberen Partien des Säuglingsdarms den Milchzucker unter Säurebildung vergärt, und das Bact. coli commune, das in zunehmender Menge in den unteren Darmabschnitten und im Stuhl nahezu in Reinkultur vorhanden ist; daneben hatte er nicht regelmäßig und in geringer Anzahl „fakultative“ Bakterien, Kokken, Hefen und anderes gefunden.

Die immer wiederkehrende Tatsache, daß auch im Stuhl des Erwachsenen trotz seines Bakterienreichtums, der sich unter dem Mikroskop zeigt, auf der Gelatineplatte in so überwiegender Menge und fast allein das Bact. coli commune zum Vorschein kommt, hat manche zu der Annahme geführt, daß die meisten der Stuhlbakterien, deren tägliche Gesamtmenge J. Strasburger (r. C. 32. 560) auf 126 Billionen und auf ein Drittel der Trockensubstanz des Kotes schätzt, abgestorben seien. Die Verhältnisse liegen ähnlich wie bei den Bakterien des Mundes und des Zahnbelags; auch dort sieht man im gefärbten Präparat große Keimmengen, während in den Kulturen verhältnismäßig nur wenige von ihnen angehen; unsere künstlichen Nährböden sagen eben den meisten Keimen des Verdauungstraktus nicht zu.

Bei Heranziehung anderer Züchtungsbedingungen gelang es denn auch, andere Keime aus dem Stuhl, speziell aus dem Säuglingskot zu gewinnen. So erhielt E. Moro, sowie Finkelstein mit Hilfe von saueren Nährböden, z. B. einfach durch Einsaat in Bierwürze, grampositive Bakterien, so den Bac. acidophilus, und H. Tissier durch Anwendung anaerobiotischer Bedingungen eine Anzahl anderer, am häufigsten den Bac. bifidus. Nach Einsaat in hohe Agarschichte

*) Th. Escherich, Die Darmbakterien des Säuglings und ihre Beziehungen zur Physiologie der Verdauung. Stuttgart, bei F. Enke, 1886.

Digitized by Google

mit oder ohne vorangeschickte 20 Minuten lange Erwärmung des Impfmaterials auf 80°, sind außer dem Bac. bifidus und dem mit ihm gleichzeitig manchmal angehenden Bac. acidophilus, bewegliche und unbewegliche Buttersäurebazillen, Kartoffelbazillen, Bazillen mit Köpfchensporen, ferner weiße Staphylokokken, Streptotricheen, Sarzinen, Soorpilze, Hefen aus Brustmilchstuhl von Säuglingen isoliert worden. Hinsichtlich der näheren Beschreibung sei auf die von E. Moro (Jahrb. f. Kinderheilk. 11. 687) verwiesen. Tsiklinky hat auf thermophile Bakterien in Fäces von Säuglingen und Erwachsenen gefahndet und mehrere Arten gefunden, die ihr Temperaturoptimum um 57° hatten und teilweise auch bei Wärmegraden bis 68° gediehen; sie beschrieb 20 Arten (AP. 03. 217).

Diarrhoische Darmentleerungen, die bekanntlich bei den verschiedensten Anlässen harmloser und gefährlicher Natur vorkommen, bergen bei den betreffenden Infektionskrankheiten die Erreger, z. B. die des Typhus, Paratyphus, der Ruhr oder der Cholera. Die klinischen Erscheinungen sind nicht immer sehr ausgesprochen, manchmal überhaupt nicht vorhanden, so daß erst die bakteriologische Untersuchung Aufschluß gibt; können doch selbst in geformten Stühlen die betreffenden Erreger bei Personen vorhanden sein, die mit den Kranken oder ihren Entleerungen in mittelbare oder unmittelbare Berührung gekommen waren. Bei Fleisch- und Wurstvergiftungen sind bestimmte Bakterien gefunden worden und bei gewissen Darmentzündungen, namentlich des Kindes, hat man Streptokokken nachgewiesen. Es gibt aber noch eine große Anzahl von Durchfällen und Brechdurchfällen, deren Ursache noch nicht klargelegt ist.

Für die bakteriologische Untersuchung von Darminhalt überhaupt sei folgendes bemerkt: Bei einlaufenden Proben überzeuge man sich im Verdachtfalle, ob dem Stuhl (oder Erbrochenen) nicht etwa antiseptische Mittel zugesetzt sind, wie es vom Wart- und Pflegepersonal oft schematisch geschieht, weil es nicht begreift, daß also behandelte Massen zu Züchtungsversuchen ungeeignet werden. Namentlich kommen hier Phenol und Sublimat in Betracht. Karbolsäure erkennt man am Geruch und durch die Eisenchloridreaktion, das Vorhandensein von Sublimat wird am besten in der Weise herausgebracht, daß man einen Teil der Flüssigkeit mit Salpetersäure ansäuert und einen Streifen blanken Kupferblechs für einige bis 24 Stunden hineinlegt; bemerkt man danach einen grauen Anflug, so spült man mit Wasser ab, reibt das Blech trocken und gibt es zusammen mit einigen Kristallen Jod in ein trockenes Reagenzglas. Bei vorsichtiger Erhitzung am unteren Ende sublimiert am kalten Teil gelbes Merkurijodid.

Nach der Aussaat auf Gelatineplatten kann es vorkommen, daß die erste Platte verflüssigt ist, selbst wenn auf den übrigen Platten keine verflüssigenden Keime vorhanden sind, was bei normalen Dejektionen die Regel, bei pathologischen, außer bei Cholera-, Proteuserkrankungen, häufig der Fall ist. In solchen Fällen hat ein aus dem pankreatischen Saft stammendes peptonisierendes Ferment gewirkt, das in der ersten Platte noch nicht genügend verdünnt war. Infolgedessen wird man eine derartige Verflüssigung hauptsächlich bei Aussaaten aus Dünndarminhalt zu erwarten haben.

Digitized by Google

Bakterien der Koligruppe.

Bacterium coli commune. Bei Aussaat von Kot eines gesunden Menschen, etwa 1 Oese in sterilem Wasser aufgeschwemmt und davon 1 Tropfen zur Gelatineplatte genommen, geht von dem unterm Mikroskop gesehenen bunten Gemisch fast nur eine Art auf, deren tiefliegende Ansiedlungen bis 1 mm groß werden, gelb aussehen und trotzdem daß sie kein Verflüssigungsvermögen besitzen, die Gelatine in ihrer Umgebung etwas eingezogen erscheinen lassen; die aufliegenden dagegen breiten sich mehrere Millimeter bis über 1 cm aus, sind im auffallenden Lichte grauweiß, im durchfallenden bläulichweiß und zeigen bei schwacher Vergrößerung eine unregelmäßige Begrenzung, im Inneren einen gelblichen Ton, später deutlichere gelbe Farbe und eine entweder mehr gleichförmige Beschaffenheit mit schwach angedeuteten strahligen oder netzförmigen Linien oder eine deutlichere netzläufige (diktyodrome), blätterrippenartige Zeichnung (Taf. VII, Fig. 39 und 40), im ganzen das Aussehen eines Weinblattes oder eines solchen von Tropaeolum majus. Das sind die Kolonien des Bact. coli commune; das Beiwort „commune" hat Th. Escherich, der dieses Bakterium aus Säuglingsstuhl zuerst züchtete und beschrieb, gewählt, weil es dem Stuhl des Säuglings und des heranwachsenden und erwachsenen Menschen „gemeinsam" ist. Die einzelnen Stäbchen sind auf Gelatine und Agar mittelgroß, haben abgerundete Enden, liegen meist einzeln, selten in kurzen Scheinfäden, nehmen die Gramsche Färbung nicht an und bilden keine Sporen (Taf. VII, Fig. 41). Sie sind fakultativ anaerob und gedeihen besser bei Luftzutritt (A m nl JG —).

Das Bact. coli comm. ist beweglich; indessen, wenn man von der mit Stuhl angelegten Gelatineplatte weg einen hängenden Tropfen anfertigt, findet man keine Eigen-, sondern lediglich eine molekulare Bewegung, die allerdings oft recht beträchtlich ist, ungefähr so wie die junger Milzbrandsporen, von denen niemand behaupten wird, daß sie Eigenbewegung besitzen. Impft man weiter, etwa in Bouillon, ab und züchtet bei Körperwärme, dann findet man am nächsten Tag mehr oder weniger bewegliche Stäbchen. Ihre Geißelzahl ist gering, gewöhnlich nicht mehr als 1 bis 3 (A. Peppler, C. 29. 345).

In zuckerhaltigen Nährböden wird reichlich Säure und Gas gebildet, Lackmusmolke wird unter Säurebildung getrübt und Milch zum Gerinnen gebracht. Auf Kartoffeln entsteht ein schmieriger, schmutziggelblicher bis bräunlicher Belag.

Andere Kolibakterien. Außer in Aussaaten aus dem Darminhalt und Dingen, die mit ihm in Berührung gekommen sind, begegnet man Ansiedlungen wie den beschriebenen nicht selten bei der Untersuchung von Se- und Exkreten unter pathologischen Verhältnissen, bei Eiterungen und Entzündungen, im Harn bei manchen Fällen von Cystitis u. s. w. Im Wasser, auch in einem sicher mit Fäkalien verunreinigten Flußwasser trifft man sie meistens erst nach Anlegung einer Vorkultur (s. S. 487 f.).

Die Bildung von Kolonien mit blätterrippenartiger Zeichnung ist nicht allein den Kolibakterien eigen, man findet unter anderem auch welche bei Sporenbildnern. Deshalb darf man nicht jede derartige

Digitized by Google

Kolonie ohne weiteres als Kolikolonie bezeichnen, sondern erst dann, wenn sie von nicht sporenbildenden und nicht grambeständigen Kurzstäbchen gebildet wird. Die Koligruppe ist groß. Es gibt in ihr sehr viele Arten, bewegliche und unbewegliche, zuckervergärende und nicht vergärende. In jedem Falle ist zur ersten Auseinanderhaltung auf diese Merkmale unter Heranziehung von Lackmusmolke neben dem Gärungsversuch zu prüfen. Weitere Untersuchungen haben über das Wachstum auf Kartoffeln und in Milch Aufschluß zu geben. Bei Verdacht auf Typhus, Paratyphus und ähnliche, Ruhr u. s. w. ist der Agglutinationsversuch entscheidend.

Typhöse Erkrankungen.

Bacillus typhi. K. J. Ebert und R. Koch sahen fast gleichzeitig die Erreger des Unterleibstyphus unter dem Mikroskop, schon 1880 brachte R. Koch ein Photogramm von ihnen, ihre ursächliche Beziehung ist dann von G. Gaffky 1884 einwandfrei festgestellt worden (KGA. Mittlg. 2. 392). Ihre Größe und ihr Aussehen zeigen Fig. 43 und 45 auf Taf. VII f.; in Gelatinekulturen trifft man regelmäßig lange Formen, die durch Scheinfadenbildung entstanden sind, eine Erscheinung, die bei der Differenzierung gegenüber Kolibakterien merkwürdigerweise nicht beachtet und herangezogen zu werden pflegt, obgleich sie auffallend und typisch genug ist, um berücksichtigt zu werden (A m nl JG —).

Bei Schnittpräparaten ist Alkohol wegen seiner farbenausziehenden Wirkung vorsichtig zu gebrauchen. H. Bonhoff verwendet zur Färbung das Gemisch von Pick-Jacobsohn in folgender Abänderung (AfH. 50. 217):

4 Tropfen gesättigter alkohol. Methylenblaulösung; 15 Tropfen Karbolfuchsin; 20 ccm dest. Wasser. Von diesem Gemisch 5 Tropfen zunächst 2 Minuten auf den Schnitt kalt wirken lassen, dann erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen. Wasserspülung.

Differenzierung mit 1proz. Essigsäure. Wasserspülung.

Mit Anilinxylol in mehreren Portionen entwässern.

Xylolbalsam. Gewebe und Kerne sind rot, Bazillenherde blau.

C. Zieler hat eine Art Beizung mit Orcein angegeben, um die Bazillen nach der folgenden Färbung mit polychromem Methylenblau alkoholfester zu machen (s. S. 54 f.).

Die Bewegung ist lebhaft mit 5 bis 12 wellenförmigen, seitenständigen Geißeln; an längeren Scheinfäden sitzen manchmal bis zu 50 (A. Peppler, C. 29. 352). Mitunter wirken Nährmittel aus nicht sicher erkennbarem Grunde ungünstig auf die Bewegung und bringen die Bazillen zur Verklumpung; deshalb soll die mikroskopische Agglutination nicht in Bouillon, sondern in phys. Kochsalzlösung oder Peptonwasser stattfinden. Taf. VIII, Fig. 44 zeigt die Geißeln an Tyb., die mit spezifischem Serum agglutiniert worden waren, nach E. Zettnow gefärbt.

Gelatineplatten. Tiefliegende Ansiedlungen sind für gewöhnlich nicht charakteristisch. Aber je weicher die Gelatine und je lebenskräftiger der Stamm, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, daß am Rande zöpfchenförmige Auswüchse entstehen. Dieses Verhalten in niedrigprozentiger Gelatine, mit dem die Tyb. übrigens nicht

Digitized by Google

allein dastehen, ist von W. Rosenthal zuerst gewürdigt und später von M. Piorkowski durch Anwendung von 3,3proz. Gelatinelösung in gärungsalkalischem Harn mit ½ % Peptonzusatz unter Einhaltung einer Züchtungstemperatur von 22° zur Unterscheidung von Kolibakterien empfohlen worden.

Die Methode hat zahlreiche Nachprüfungen erfahren, unter anderen in meinem Institut durch A. Peppler, der sie für die Diagnose zwar von Wert, aber nicht ganz zuverlässig fand, weil im menschlichen Stuhl und, wie es scheint, gerade von Typhuskranken auch andere Bakterien vorkommen, die in weicher Gelatine zerfaserte Kolonien bilden (Diss., Erlangen 1900). Die Paratyphusbazillen wachsen trotz ihrer Beweglichkeit nach H. Schottmüller darin nicht so, sondern ihre Kolonien sind fast immer ovoid oder rund mit regelmäßigen Konturen (ZfH. 36. 386). Weitere Untersuchungen über die Verwendbarkeit jener Harngelatine siehe bei J. Hayaschikawa, HR. 01. 925. Die Bildung von Fortsätzen ist später als besondere Eigentümlichkeit der Tyb.-Kolonien in Malachitgrüngelatine von F. Loeffler hervorgehoben worden (s. S. 415 und 420).

Die Oberflächenkolonien sind denen der Kolibakterien ähnlich, aber dünner, erreichen nicht die großen Ausbreitungen, sehen bei schwacher Vergrößerung zarter, im Jugendzustand farblos und später nie so dunkelgelb aus (s. Taf. VII, Fig. 42).

Auf Agar ist nichts Bezeichnendes zu sehen; zur Erzielung isolierter Kolonien muß der Nährboden gut getrocknet und mit mehr Agar als gewöhnlich versetzt sein.

In zuckerhaltigen Nährmitteln wird kein Gas gebildet (einfachste Anordnung s. Fig. 190, S. 227).

Lackmusmolke bleibt fast klar; die in ihr gebildete Säure entspricht nach J. Petruschky 2 bis 3 % Zehntel-Normalnatronlauge. Diese Säuerung des Milchzuckers wird bei Gegenwart von Eiweißstoffen zurückgehalten; darauf beruht die Vorschrift für den Lackmuslaktoseagar (s. S. 95 und 414 f.). Bouillon wird trüb.

Milch gerinnt nicht und zeigt ganz schwach saure Reaktion. Die Einsaat in Milch und in Lackmusmolke läßt den Tyb. von dem ihm in der Form und Kultur sehr ähnlichen, beweglichen, kein Gas bildenden Bac. faecalis alcaligenes (J. Petruschky, C. 19. 187) unterscheiden. Sowohl in der Milch als auch in der Lackmusmolke, die er trübt, bildet er Alkali, worauf sein Name hindeuten soll.

Auf Kartoffeln von geeigneter und schwach saurer Beschaffenheit ist der gebildete Rasen farblos (G. Gaffky), bei Kolibakterien grau, gelblich bis braun. Zur Prüfung einer verdächtigen Kultur muß man eine echte Tyb.-Kultur in gleicher Weise züchten: Parallelkultur nach E. Germano und G. Maurea (r. HR. 4. 888; s. auch S. 215). Die einige Tage bei 37° darauf gewachsenen Tyb. zeigen Polkörnchen.

Die Tyb. bilden kein Indol; wenn man zu 10 ccm der 1 bis 2 Tage bei 37° in Bouillon oder Peptonwasser gewachsenen Kultur 1 ccm einer 0,02proz. Kaliumnitritlösung und einige Tropfen Schwefelsäure gibt, entsteht keine Rötung, was durch Ausschüttelung mit Amylalkohol bestätigt werden kann. Bei der Ehrlichschen Indolreaktion erscheint nach A. Böhme häufiger ein eben angedeuteter rosa Schimmer, der aber kaum stärker ist, als er in steriler Bouillon entsteht (s. S. 231).

Neutralrot wird von den Tyb. nicht reduziert (auch nicht von Ruhrbazillen), wohl aber von anderen Vertretern der in Rede stehenden

Digitized by Google

Gruppe. Zur Anstellung dieser von C. J. Rothberger (C. 24. 513) angegebenen Reaktion wird Nähragar im Reagenzröhrchen verflüssigt, mit 2 bis 4 Tropfen einer konzentrierten wäßrigen, sterilisierten Lösung von Neutralrot versetzt, auf 40° abgekühlt und mit 0,5 ccm einer 24stündigen Bouillonkultur gründlich vermischt, was durch Hinundherneigen, nicht durch Schütteln zu geschehen hat, damit nicht zu viel Sauerstoff hineinkommt. Hierauf läßt man im kalten Wasser rasch erstarren und stellt die Proben in den Brütschrank; nach 24 Stunden wird man den Agar bei Tyb. und Ruhrbazillen weinrot wie die Kontrolle finden, bei den übrigen mehr oder weniger entfärbt und fluoreszierend.

Die Methode ist verschiedentlich abgeändert worden. W. Scheffler legte zur Vermeidung der umständlichen und zeitraubenden Schüttelkulturen Stiche in Agar an, dem auf 100 ccm 0,3 g Traubenzucker und 1 ccm konzentrierter wäßriger Neutralrotlösung zugegeben war, und zwar so, daß der Stich in dem in hoher Schicht eingefüllten Agar nicht in der Mitte, sondern nahe der Wand gemacht wurde. Der Ausfall der Reaktion ließ sich nach 24, spätestens 48 Stunden erkennen (C. 28. 199).

A. Oldekop erzielte schon nach 12 Stunden Ergebnis, wenn er den Agargehalt des Nährbodens zu nur 0,3% nahm und 2% Pepton nebst 0,15% Traubenzucker hinzufügte (Näheres s. C. 35. 120).

O. Heller fand bei dieser Anordnung die Gelatine der Agarlösung zur Ausschaltung des Sauerstoffs überlegen, und zwar die gewöhnliche Nährgelatine, die nicht wie der schwachprozentige Agar erst bereitet werden muß. Man soll auf 10 ccm gewöhnlicher Nährgelatine 4 Tropfen konzentrierter wäßriger Neutralrotlösung nehmen, mit 0,5 ccm 24stündiger Bouillonkultur eine Schüttelkultur anlegen und in den Brütschrank stellen. Die Reaktion soll schon nach 6 Stunden vollendet sein (C. 38. 117).

Wir haben bei Nachprüfungen die Rothbergersche Anordnung als sicherer befunden; sie ist auch einfach, denn sie läßt sich mit dem vorhandenen Agar machen.

Widerstandsfähigkeit. Die Tyb. gehen in Wasser von 56° binnen 10 Minuten zu Grunde; an Seidenfäden haftende fand Kurpjuweit (ZfH. 43. 369) in Wasser von 50 bis 52° schon nach 5 Minuten, in 2proz. Sodalösung der gleichen Wärme in weniger als 1 Minute getötet. Kulturen auf der Oberfläche schräg erstarrten Agars sind aber selbst nach 1stündigem Verweilen der Röhrchen im Wasserbade von 65° noch nicht in jedem Falle vollkommen sterilisiert.

Nach 1½stündiger Bestrahlung mit direktem Sonnenlicht oder nach 5stündiger Wirkung diffusen Tageslichtes auf infizierte Agarplatten fand H. Buchner die ausgesäten Keime nicht mehr entwicklungsfähig (AfH. 17. 192).

Angetrocknet an Seidenfäden und über Chlorcalcium aufbewahrt können sie sich ½ bis 1 Jahr und noch länger halten (L. Heim).

Ausbreitung im Körper. Die Inkubation dauert beim Menschen 10 bis 20 Tage. Nach der Infektion dringen die Keime in die Darm- und Gekrösdrüsen und in andere innere Organe ein.

In den einzelnen Darmabschnitten sind sie in verschiedener Menge verteilt, nach W. v. Drigalski und G. Jürgens fanden sich Kulturen in den Abstrichen von der Schleimhaut: im Rektum und Dickdarm bis hinauf zum Cöcum spärlich oder gar nicht; im unteren Ileum mäßig reichlich, im oberen Ileum reichlich, im Jejunum sehr reichlich, im oberen Duodenum regelmäßig, im Magen bei sauer reagierendem Inhalt stets reichlich, ferner in der ganzen Speiseröhre

Digitized by Google

und selbst im Zungenbelag. Außerdem sind sie nachgewiesen worden: in den Mandeln, den Gekrösdrüsen und in allen parenchymatösen Organen, vielfach in den Lungen, wenn sie nicht pneumonisch infiziert waren, mehrfach in der Schleimhaut der Luftröhre, endlich in der quergestreiften Muskulatur und im Herzmuskel, im Uterus und in der Plazentarstelle des schwangeren Uterus (C. 35. 776). Sie sind also im ganzen Körper einschließlich des Blutes zu finden; es kommen auch septikämische Erkrankungen ohne charakteristische anatomische Veränderungen vor, wie W. Weichardt (ZfH. 36. 439) nachgewiesen hat. Lieblingsansiedlungsstätten sind die blutbildenden Organe, Lymphdrüsen, Milz, Knochenmark, wo sie H. Quincke (BkW. 94. 351) im Rippen- und Brustmark zuerst gefunden hat. Das Knochenmark gilt als die Bildungsstätte der Antistoffe. Die Tyb. sind endlich bei verschiedenen Nachkrankheiten, die ein oder selbst mehrere Jahre später hervortreten können, nachgewiesen worden; im Gallenblaseninhalt, wo sie sich lange halten, begegnete ihnen E. v. Dungern noch 14½ Jahre nach abgelaufener Krankheit (MmW. 97. 699).

Die Gallenblase stellt nach den Untersuchungen von J. Forster und H. Kayser „ein Rezeptakulum" für die Tyb. dar. Sie kommen von der Leber dorthin, finden dann ihren Weg durch den Darm nach außen, und wenn sie im Verschwinden begriffen sind, ist die Gallenblasenschleimhaut ihr letzter Aufenthaltsort. Es wurde das sowohl bei Menschen als auch bei Tieren (Kaninchen) festgestellt, die nach intravenöser Injektion nicht zu kleiner Gaben (6 mg) noch 6 Wochen danach Tyb. in der Galle beherbergten. Die Bazillenträger leiden dabei oft an Gallensteinen, nach deren Entfernung endgültige Heilung eintreten kann (MmW. 05. 1473).

Die Ausscheidung erfolgt regelmäßig mit den Fäces, in 35 % der Fälle mit dem Urin, auch mit dem Auswurf. Die Absonderung mit dem Urin tritt gewöhnlich nicht vor der 2. Woche ein, erstreckt sich aber weit in die Rekonvaleszenz und hält wochen-, monate-, selbst jahrelang an (DmW. 00. 825).

Im Tierversuch hat man mehr eine toxische als eine infektiöse Wirkung erhalten. Für etwa 300 g schwere Meerschweinchen beträgt die kleinste tödliche Dosis nach R. Pfeiffer und W. Kolle gewöhnlich $^1/_{10}$ bis $^1/_5$, selbst nur $^1/_{50}$ bis $^1/_{30}$ Oese (1 Oese = 2 mg), wenn die Agarkultur frisch aus der menschlichen Milz stammt. Die Tiere sterben dann in 6 bis 8 Stunden; im Peritonealexsudat sind enorme Mengen von Bazillen vorhanden, im Blut und in den Organen spärlicher. Bei kleineren Gaben ist das Exsudat eitrig, zäh und weist wenig Bazillen auf, die Organe enthalten dann überhaupt keine. Junge, bei 60° abgetötete Kulturen töten Meerschweinchen in der Dosis von 4 bis 5 mg auf je 100 g Tier innerhalb 24 Stunden. Filtrate sind so gut wie unwirksam. Das Gift der Tyb. ist ein Endotoxin.

Die aktive Immunisierung geschieht nach R. Pfeiffer und W. Kolle zunächst mit höchstens einer Oese abgetöteter Kultur (s. S. 260).

Zu diesem Zweck werden zehn möglichst gleich große Agarröhrchen mit einer Bouillonaufschwemmung von stets derselben Konzentration besät, 24 Stunden bei

Digitized by Google

37° gehalten, die gewachsenen Rasen mit je 4,5 ccm frisch bereiteter, steriler physiologischer Kochsalzlösung mittels langer Platinöse abgeschwemmt und zur Zurückhaltung etwa mitgenommener Agarstückchen durch ein steriles Gazefilter in ein steriles Erlenmeyersches Kölbchen filtriert. Dieses enthält danach 45 ccm Flüssigkeit mit zusammen 100 Oesen Agarkultur, denn eine Agarkultur hat 10 Oesen. Der Inhalt der Kölbchen wird 1½ bis 2 Stunden bei 60° zur Abtötung der Tyb. gehalten, dann gehörig umgeschüttelt, zur Sterilitätsprüfung etwas davon auf Agar und in Bouillon übertragen und dann mit 5 ccm einer frisch mit sterilem destilliertem Wasser bereiteten 3proz. Phenollösung versetzt. Hat sich der Impfstoff bei der Prüfung steril gezeigt, dann wird er karbolisiert, in braune Fläschchen von 20 ccm Inhalt abgefüllt und mit sterilisierten Gummistopfen verschlossen.

Da 50 ccm Impfstoff 100 Oesen Agarkultur enthalten, ist 1 Oese in 0,5 ccm enthalten. Zur Impfung mit Bruchteilen von Oesen wird mit entsprechenden Mengen steriler physiologischer Kochsalzlösung weiter verdünnt.

Paratyphus. Mit diesem Namen bezeichnet man typhöse Erkrankungen mit geringerer Sterblichkeit und günstigerem Verlaufe, die nur auf bakteriologischem Wege diagnostiziert werden können. Ihre Erreger sind vom Tyb. verschieden, aber mit ihm verwandt. Der Name Paratyphusbazillen stammt von H. Schottmüller, der sie bei Blutuntersuchungen von Kranken in Hamburg zuerst gefunden (DmW. 00. 511) und zwei Typen ermittelt hat (ZfH. 36. 368). Fast gleichzeitig züchtete H. Kurth solche typhusähnliche Bazillen aus dem Blute von 5 Kranken in Bremen und nannte den Erreger Bac. bremensis febris gastricae (DmW. 01. 501). Die zwei Typen Schottmüllers haben A. Brion und H. Kayser als Typus A und B bezeichnet (MmW. 02. 611). In der Folge wurde der Paratyphus B, mit dem der Bremer Bazillus identisch ist, in der weit überwiegenden Mehrzahl gefunden, und H. Schottmüller hat für ihn den Namen Bac. paratyphosus alcalifaciens vorgeschlagen (MmW. 04. 294).

Zur diagnostischen Prüfung des Serums eines typhösen Kranken brauchte man dementsprechend die drei Kulturen. Aber infolge des Vorhandenseins von Nebenagglutininen fällt das Ergebnis nicht immer eindeutig aus. Immerhin läßt sich nach O. Lentz Paratyphus gegenüber Typhus diagnostizieren, wenn man die Agglutination bei Zimmer- und bei Brütschrankwärme anstellt. Der höhere Grenzwert für Paratyb. B wird, wenn das Paratyphusagglutinin das Hauptagglutinin ist, bei 15 bis 18° innerhalb 20 bis 30 Minuten erreicht; kommt er als höherer erst bei Brütwärme heraus, dann handelt es sich nur um Nebenagglutinin.

In jedem Falle ist zur Diagnose der Nachweis des betreffenden Erregers durch die Kultur erforderlich; sie muß auf alle in Betracht kommenden wichtigen Unterscheidungsmerkmale geprüft und der Agglutinationsprobe mit je einem Serum von künstlich mit den betreffenden Krankheitserregern immunisierten Tieren unterworfen werden; zur Beseitigung von Zweifeln kann man Tiere mit dem gezüchteten Erreger behandeln und das danach gewonnene Serum auf jeden der drei Stämme wirken lassen. Zur Untersuchung des Kranken ist die Entnahme von Blut und die Aussaat des Blutkuchens in verflüssigten Agar oder auf Lackmuslaktoseagar am sichersten. Paratyb. A verschwindet nach H. Kayser (C. 40. 285) bald aus dem kreisenden Blut.

Eine Mischinfektion von Typhus und Paratyphus ist von H. Conradi mitgeteilt worden, der die Tyb. und Paratyb. nicht bloß in den Darmentleerungen, sondern auch in dem Wasser auffand, von dem

Digitized by Google

das betreffende Kind 10 Tage vor Beginn der Erkrankung kleine Eisstückchen geschluckt hatte (DmW. 04. 1165).

Paratyphusbazillen. Typus A steht dem Typhus-, Typus B dem Kolibazillus näher. Paratyb. B ist weitaus häufiger gefunden worden als A; H. Kayser glaubt, Paratyb. A sei nur zu oft übersehen worden (C. 40. 285). Paratyb. B ist mit dem Mäusetyb. und Bac. enteritidis, sowie mit anderen bei Fleischvergiftungen gefundenen Erregern nahe verwandt (s. S. 426).

Kulturunterschiede zwischen A und B sind folgende:

	Paratyb. A.	Paratyb. B.
Dextrose und Maltose .	Stark vergoren	Stark vergoren
Laktose	Geringe Gasbildung	Starke Gasbildung
Milch	Nicht verändert	Später aufgehellt
Kartoffel	Wie Tyb.	Wie Kolibaz.
Lackmusmolke	Gesäuert	Gesäuert, später alkalisiert
Neutralrot	Gelb, später wieder rot	Gelb; bleibt so

Beide sind für Kaninchen (intravenös), Meerschweinchen (intraperitoneal), Mäuse (subkutan) pathogen; A zeigt lokal pyogene Eigenschaft. Beide wirken nach Abtötung (A bei 60°, B auch bei 100° getötet) eingespritzt giftig.

Beim Menschen sind Unterschiede in der Wirkung der beiden Arten noch nicht sichergestellt, von Typhus aber sind Abweichungen insofern bemerkt worden, als die Veränderungen des lymphatischen Apparates und der Sitz der Affektionen anders sind; hauptsächlich ist das Kolon affiziert. Die klinischen Unterschiede hat O. Lentz dargelegt. Die Paratyphuserkrankungen verlaufen, wie erwähnt, leichter und seltener tödlich. Auch die Paratyb. werden mit Galle, Kot und gelegentlich mit dem Harn ausgeschieden. Abszeßbildung durch Paratyb. B beschrieb Kranepuhl (MmW. 05. 1331). Ein Sammelreferat von P. Clemens s. DmW. 04. 280.

Hinsichtlich des Unterschiedes der Kolonien von Paratyb. B und Tyb. auf Lackmuslaktoseagar machte H. Conradi auf ein scharfes Unterscheidungsmittel aufmerksam: Wenn man die Platten 20 Stunden im Brütschrank und dann weitere 3 Tage bei Zimmerwärme hält, bleiben die Tyb.-Kolonien durchaus hell und glasig, die von Paratyb. B dagegen sind rings von einem dicken, undurchsichtigen Schleimwall umgeben.

Die bakteriologische Typhusdiagnose.

Die Bekämpfung des Typhus nach den von R. Koch*) aufgestellten Grundsätzen verfolgt das Ziel, die von kranken, krankheits-

*) Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militärsanitätswesens, herausgegeben von der Medizinalabteilung des k. pr. Kriegsministeriums, Heft 21. Berlin, bei A. Hirschwald, 1903.

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Digitized by Google

verdächtigen und scheinbar gesunden Personen, sogenannten Bazillenträgern, ausgeschiedenen Infektionsstoffe unschädlich zu machen, die Kranken zu isolieren und die gesunden Bazillenträger ärztlich zu überwachen, nachdem sie in geeigneter Weise belehrt sind, wie sie die Gefahr, die sie der Umgebung bieten, möglichst gering gestalten können.

Es hat sich herausgestellt, daß die Krankheit vielfach durch Kinder verschleppt wird und daß die Absetzung der Fäkalien und des Urins, die in den Dörfern oft auf der Straße geschieht, dabei eine Rolle spielt, weil der Ansteckungsstoff mit den Füßen wieder in die Häuser hineingeschleppt wird. Außer der Herausfindung der Ausscheider, die mitunter sogenannte Dauerausscheider sein können, ist die Aufmerksamkeit auf die Bezugsquellen der Nahrungsmittel und auf das Trinkwasser zu richten. Für diese Untersuchungen sind besondere Stationen, namentlich an der Ost- und Westgrenze des Reichs, in Orten, wo der Typhus endemisch herrscht, eingerichtet worden. Die „Maßnahmen zur Bekämpfung des Typhus" enthalten den „Entwurf einer Dienstanweisung für die zur Typhusbekämpfung eingerichteten Untersuchungsämter" (KGA. Veröff. 04. 1275 und Arb. 24. 4). In der Anlage 1 zu diesem Entwurf ist die Anleitung für die bakteriologische Feststellung des Typhus gegeben:

I. Zur Untersuchung geeignetes Material.

1. Stuhlgang; 2. Harn; 3. Blut aus Roseolaflecken; 4. Auswurf; 5. eitrige Absonderungen oder entzündliche Ausschwitzungen jeder Art; 6. Blut, a) durch Stich in das Ohrläppchen, b) ausnahmsweise durch Punktion der Armvene in der Menge von 2 bis 3 ccm gewonnen; 7. beschmutzte Wäschestücke (unter anderem Windeln), namentlich bei heftigen Durchfällen; 8. von Leichen: Milz oder auch (bei nicht gestatteter Obduktion) Milzsaft, durch Aspiration mit einer Injektionsspritze gewonnen, Dünndarmschlingen oder Darminhalt (namentlich vom Zwölffingerdarm), Gekrösdrüsen, Galle, Inhalt von Eiterherden, Lunge, Inhalt der Luftröhrenäste; 9. Wasser in der Menge von 3 bis 5 l, aus Kesselbrunnen, a) von der Oberfläche, b) nach vorherigem Aufrühren des Grundes.

Die Erläuterung zu den einzelnen Punkten soll, soweit erforderlich, im nachfolgenden gegeben werden, jedoch ausführlicher als in der für bereits geschulte Arbeiter gegebenen amtlichen Anweisung, zumal da seit ihrem Erscheinen neuere Verfahren zur Auffindung der Tyb. aufgekommen sind.

II. Gang der Untersuchung.

Zu I 1, 2, 4, 5, 7, 8 s. S. 416.

Zu Nr. 9 s. bei Wasser, S. 492.

Zu Nr. 6. Das Blut aus dem Ohrläppchen oder einer Vene ist das vornehmlichste und geeignetste Material zur bakteriologischen Typhusdiagnose. Die Blutaussaat ist im Beginn der Erkrankung deshalb so besonders wertvoll, weil um diese Zeit die agglu-

Digitized by Google

tinierende Eigenschaft noch wenig oder gar nicht ausgeprägt zu sein pflegt.

Man kann das für die Agglutinationsprobe eingeschickte Blut zu beiden Zwecken verwenden, das abgeschiedene Serum für diese, den Blutkuchen für die Kultur. R. Müller und H. Gräf, die den bis dahin vernachlässigten Blutkuchen zuerst in diesem Sinne verarbeitet haben, strichen ihn direkt auf Lackmuslaktoseagarplatten aus, nachdem sie das Fibringerüst vorher mit der Schere oder mit einer Gewebszerreibungsmaschine zerkleinert hatten (MmW. 06. 69).

Das Blut kann schon von vornherein an der Gerinnung verhindert werden, wenn man ihm Blutegelextrakt oder Rindergalle mit etwa 10 % Pepton und 10 % Glyzerin im Dampf sterilisiert (s. auch S. 460) zusetzt. Von der Gerinnungshemmung läßt sich ohne Nachteil Umgang nehmen.

Wenn den Aerzten Kapillaren oder kleine Reagenzröhrchen mit der Anweisung hinausgegeben werden, sie mit Blut aus dem Ohrläppchen zu füllen, erhält man oft ungemein wenig, so daß es kaum zur Agglutination hinreicht. Man verlange größere Mengen. Diese sind durch die für den Kranken und seine Umgebung wenig belästigende Punktion einer Ellenbeugevene bei einiger Uebung leicht zu gewinnen.

In einem Krankenhause kann man nach H. Schottmüller eine Spritze von 20 ccm Inhalt benutzen (s. S. 460) und den gewonnenen Inhalt in etwa 6 Röhrchen mit Nähragar verteilen, der im siedenden Wasserbade verflüssigt und auf etwa 45° abgekühlt ist, mischen und in Schälchen ausgießen. Tiefliegende Kolonien wachsen darin mit tiefschwarzgrüner Farbe, oberflächliche haben einen dunkelgrauen Farbenton (MmW. 02. 1561).

Für die Praxis genügt es, das Blut mit einer 5 ccm haltenden Spritze aus einer Ellenbeugevene zu entnehmen. Sie muß vor der Verwendung ausgekocht sein und eine scharfe Nadel haben. Vor dem Einstich wird eine Binde so fest um den Oberarm gelegt, daß man den Radialispuls gerade noch fühlt. Das Blut kann in ein steriles Röhrchen entleert und darin an die Untersuchungsstelle geschickt werden, wo der Blutkuchen zur Züchtung verwendet wird. Zu dieser Züchtung hat H. Kayser die Vorkultur in sterilisierter Rindergalle (1 Teil Blut auf 2 Teile Galle) am geeignetsten gefunden. Die Galle hat den Typhus- und Paratyphusbazillen gegenüber eine entwicklungsbefördernde Wirkung.

Vorteilhafter ist es, die Einsaat von dem punktierenden Arzt unmittelbar nach der Entnahme vornehmen zu lassen. Er soll 2,5 ccm Blut in 5 ccm steriler Rindergalle geben und das Gemisch einsenden.

Auf H. Kaysers Veranlassung sind von der Firma E. Merck in Darmstadt „Typhusgallenröhren“ mit Gummi und Pergament steril verschlossen und in Blech- und Holzbüchsen verpackt in den Handel gebracht worden.

Im Laboratorium wird der dichte Verschluß mit einem sterilen Wattepfropf vertauscht und die Probe zur Anreicherung in den Brütschrank von 37° gestellt. 14 bis 20 Stunden später werden einige Tropfen mit dem Glasspatel auf Fuchsin- oder Lackmuslaktoseagar verteilt. In positiven Fällen gibt diese Aussaat reichliche Typhus-

Digitized by Google

oder Paratyphuskolonien. Im negativen Falle wird nochmals ein Teil des Restes aus der Gallenröhre von der unterdessen 2 Tage lang bebrüteten Gallenröhre ausgestrichen. Bei Vorhandensein von Typhus glückte der Nachweis in der 1. Woche der Erkrankung in 96 bis 100 % der Fälle (MmW. 06. 823).

Zu Nr. 3. Die Untersuchung von Roseolen ist nach den günstigen Ergebnissen mit den genannten Blutaussaaten umsomehr hinfällig geworden, als die Entnahme aus den Roseolen viel umständlicher ist, deshalb fast nur in Krankenhäusern vorgenommen werden kann, und weil die Züchtung nicht aus jedem Fleck gelingt. Immerhin sei die Technik nach F. Neufeld (ZfH. 30. 498) angefügt:

Stets empfiehlt es sich, mehrere Flecke auf einmal zur Untersuchung zu nehmen; am meisten eignen sich die zarten, erst kürzlich aufgetretenen. Die betreffende Hautstelle wird mit einem in Alkohol und Aether getauchten Wattebausch ohne stärkeres Drücken und Reiben gereinigt, alsdann wird mit einem spitzen Skalpell oder einer Impflanzette ein seichter Einschnitt in die Roseole gemacht; nun kratzt man, bevor noch der erste Blutstropfen hervordringt, mit der Spitze desselben Messers etwas Gewebssaft aus der kleinen Wunde heraus und bringt diesen sofort in Bouillon; aus dem Röhrchen bringt man mit der Messerspitze einige Tropfen Bouillon auf die Wunde, um die hervorquellenden Blutstropfen sogleich zu verdünnen; sie werden dann ebenfalls in Bouillon oder ins Kondenswasser von Agarröhrchen verimpft; mit diesem wird allenfalls nach Zufüllung noch einiger Kubikzentimeter Bouillon die Agaroberfläche durch Neigen des Röhrchens bespült.

Nährböden. Ihre Bereitung s. S. 95 ff. Hier sei das jedem zu Grunde liegende Prinzip dargelegt.

1. Zur Vorkultur:

Der saure Malachitgrünagar, mit Malachitgrün I Höchst bereitet, ist eine Modifikation einer früher von F. Loeffler (DmW. 03. Ver. 286) angegebenen Zusammensetzung. Er hält viele Bakterien zurück, läßt aber Tyb. so weit zur Entwicklung kommen, daß sie, mit Bouillon abgeschwemmt, für ein folgende Aussaat auf Lackmus- oder Fuchsinlaktoseagar viel reichlicher vorhanden sind als im Ausgangsmaterial. Paratyb. B wächst noch kräftiger als der Tyb. Der Nährboden wird in gewöhnliche Petrischalen gegossen.

2. Zur elektiven Züchtung:

A. Der Lackmuslaktoseagar ist eine geeignete Modifikation eines früher von R. Wurtz angegebenen ähnlichen Nährbodens. Er enthält mehr Agar als gewöhnlich, um die Diffusion der von den Kolibakterien aus dem Milchzucker gebildeten Säure zu erschweren; ferner ist von W. v. Drigalski außer Pepton noch Nutrose (oder Tropon) zugegeben worden, weil die Tyb. bei Gegenwart von Eiweiß den Milchzucker, der zu 1,5 % im Nährboden enthalten ist, nicht so bald angreifen, als es die Kolibakterien tun. Infolgedessen wird der Lackmusfarbstoff von den Tyb., aber auch von anderen Alkalibildnern innerhalb der in Betracht kommenden Züchtungszeit nicht gerötet, im

Digitized by Google

Gegenteil etwas gebläut, während er von den Kolibakterien deutlich gerötet wird. Alle roten Kolonien scheiden ohne weiteres aus. Die Entscheidung kann natürlich nur bei Tageslicht getroffen werden. Dem Agar ist außerdem von H. Conradi Kristallviolett 1 : 100 zugesetzt worden, das einen großen Teil unerwünschter Bakterien nicht aufkommen läßt; man kann daher die gegossenen Schalen offen trocknen lassen, ohne Luftverunreinigungen befürchten zu müssen; nur Fliegen sind durch ein Drahtnetz abzuhalten. Die Schalen haben einen Dchm. von etwa 20 cm. Es werden 20 bis 25 ccm Nährboden eingegossen.

B. Der Fuchsinlaktoseagar nach S. Endo ist eine Modifikation der von G. Marpmann (C. 16. 817) vorgeschlagenen Verwendung von Fuchsinagar, der durch Zusatz von Natriumsulfit farblos gemacht worden ist (C. 35. 109; über die Theorie der Zusammensetzung s. K. Fürntratt, C. 39. 487). Aus dem farblosen fuchsinschwefligsauren Natron, das schon an der Luft leicht oxydiert wird, entsteht bei Gegenwart von Säure, hier der seitens verschiedener Bakterien aus dem Milchzucker gebildeten, wieder roter Farbstoff. Die Tyb. lassen den Nährboden, da sie in dem Nährboden keine Säure bilden, farblos; war er schon von vornherein nicht völlig farblos, sondern schwach rosa, dann bemerkt man sogar, daß sich die Tyb.-Kolonien mit einem hellen, farblosen Hof umgeben. Die Ausgießung erfolgt ebenfalls zu 20 bis 25 ccm in große Schalen. Zur Trocknung legt man die Schalen umgekehrt schräg auf den Rand ihres Deckels unter ein Drahtnetz; denn Luftkeime gehen auf diesem Nährboden, dem Kristallviolett fehlt, an.

P. Klinger erhielt mit dem Fuchsinagar um 33⅓% bessere Ergebnisse als mit dem Lackmusagar, in 2 Fällen aber Mißerfolge, wo dieser Tyb. lieferte, und rät daher zur Anlegung von 2 Plattenserien mit beiden Nährböden. Der Fuchsinagar ist wesentlich billiger (bei ausschließlichem Verbrauch von 6 l täglich im Jahre um 11000 Mk.), und läßt die Tyb.-Kolonien leichter erkennen, insbesondere auch bei künstlicher Beleuchtung (KGA. Arb. 24. 35).

3. Zur elektiven Züchtung und zur Vorkultur:

Die Malachitgrünnährböden mit Malachitgrün 120 Höchst*) von F. Loeffler:

A. Der alkalische Malachitgrünagar bezweckt, daß die Tyb. den Nährboden durch das von ihnen gebildete Alkali entfärben. In saurem Nährboden würde das gebildete Alkali neutralisiert und so die Entfärbung beeinträchtigt. Zur Neutralisierung und Alkalisierung ist Soda genommen worden, weil sie nicht schädigt, während ein etwa vorhandener Ueberschuß an Kali entwicklungshemmend wirkt. Fleischextrakt ist weniger geeignet als Fleischwasser. Für das charakteristische Wachstum der Tyb. erwies sich Zusatz von Nutrose anstatt Pepton geeignet. Es werden je 15 bis 20 ccm in Schalen gegossen.

B. Die phosphorsaure Grüngelatine soll angewendet werden**):

*) Als absolut chemisch reines Präparat liefern die Höchster Farbwerke jetzt Malachitgrünkristalle (Chlorzinkdoppelsalz), dessen Wirkung nach F. Loeffler etwa zehnfach so stark wie beim Malachitgrün 120 ist.

**) Die Phosphorsäure ist nicht, wie S. 98 Zeile 3 von oben angegeben, doppelt normal zu nehmen, sondern einer Berichtigung von F. Loeffler zufolge nur 1,4prozentig.

Digitized by Google

a) zur Aussaat auf Platten, die bei 25° gehalten werden; der Grünzusatz hält viele Kleinwesen zurück, der Gelatinenährboden läßt bezeichnende Kolonienbildung (strahlige Fortsätze an ihnen) erkennen;

b) zur Vorkultur in Reagenzröhren bei 37°.

C. Die Grünlösungen (S. 98) geben unterscheidende Merkmale zu erkennen, je nachdem sie mit Tyb. oder mit Koli- oder anderen Bakterien geimpft werden, wie nachfolgende Zusammenstellung nach Loeffler zeigt:

Grünlösung	1	2	4
Typhusbazillen . .	Keine Gärung*); fällt Nutrose eigenartig: Flüssigkeit im ganzen geronnen wie saure Milch; darüber klare grüne Flüssigkeit	Verändert die Lösung fast gar nicht; nur allmählich wird das Grün etwas reduziert	Keine Gärung**). Starke gleichmäßige Trübung
Kolibazillen . . .	Lebhafte Gärung. Nutrose ausgefällt, klebt zum Teil in schmutziggrünen Streifen an der Glaswand, zum Teil ist sie durch Gas nach oben gerissen und schwimmt als eine schmutziggrüne Schicht auf der Oberfläche	Vergärung wie bei 1	Desgl.
Paratyb. A . . .		Macht die Lösung schwach blau	—
Paratyb. B . . .		—	Lassen klar, bilden aber starken Bodensatz
B. enteritidis . .		Vergärt nicht; reduziert das Grün, so daß die Lösung allmählich blaßgelb wird	
Mäusetyphus . .			Starke gleichmäßige Trübung
Verschied. Fleischvergifter . . .			

Grünlösung 3 wird von den oben aufgeführten Bakterien nicht verändert, nur bei einem Tyb. ähnlichen Stäbchen (wahrscheinlich Bac. faecalis alcaligenes) wurde sie blau.

Besäung und Untersuchung der Lackmus- und Fuchsinagarplatten mit Vorkultur. In der amtlichen Anweisung (s. S. 412) heißt es:

„Zu I. 1, 4, 5, 7, 8. Anlegung von mindestens 2 Serien Platten auf v. Drigalski-Conradischen Nährboden. Züchtung bei 37° 18 bis 24 Stunden lang oder 2 bis 3 Tage bei Zimmertemperatur.

Der Oberflächenausstrich geschieht mit Hilfe des v. Drigalskischen Glasspatels, nachdem der Stuhlgang mit steriler 0,8proz. Kochsalzlösung verdünnt und verrieben ist.

Von jeder Stuhlprobe werden wenigstens zwei Plattenserien angelegt. Es empfiehlt sich, eine von den beiden Serien so anzulegen, daß die Oese Stuhlgang u. s. w. in 4 bis 6 Tropfen Bouillon oder Kochsalzlösung aufgeschwemmt und jeder Tropfen auf 1 bis 2 Platten verteilt wird.

*) Auch einige andere Arten vergären Lösung 1 nicht, so ein dem Tyb. ähnlicher, der aber auf Agar einen gelblichen Rasen bildet.

**) Lösung 4 wird von keinem der genannten Bakterien vergoren, weil der Zusatz von Kaliumnitrat und -nitrit die Gärung hindert.

Digitized by Google

2. Zu I. 2. Untersuchung wie bei II. 1. Die Aussaat erfolgt
bei Harn, der durch Bakterien getrübt ist, unmittelbar in Mengen von mehreren Oesen,
bei klarem Harn in Menge von einem bis mehreren Kubikzentimetern, die von der Oberfläche des Harns entnommen werden, event. nachdem dieser mehrere Stunden gestanden hat."

Die v. Drigalskischen Glasspatel (s. Fig. 26, S. 19 und Fig. 127, S. 125) werden zu mehreren zusammen in Blechbüchsen trocken sterilisiert. Ihr längerer als Handhabe dienender Schenkel ist etwa 20 cm lang, der kürzere 5 cm; dieser kürzere Schenkel wird in das auszustreichende Material getaucht, dann berührt man mit ihm und zwar mit seiner ganzen Ausdehnung den Nährboden und reibt auf der harten Agaroberfläche der ersten Platte sorgfältig nach allen Richtungen kreuz und quer; hierauf in derselben Weise, ohne den Spatel abzubrennen, auf einer zweiten, allenfalls dritten und vierten Platte weiter. Man muß jede Platte unter wiederholtem Drehen in den verschiedensten Richtungen mit dem kurzen Schenkel förmlich auf ihrer ganzen Oberfläche polieren. Danach bleiben die Platten mindestens ½ Stunde, jedenfalls so lange offen stehen, bis die Agaroberfläche vollständig trocken geworden ist. Fuchsinlaktoseplatten dürfen nicht offen gelassen werden; man stellt sie umgekehrt in den Brütschrank.

Nachdem sich die Hinzunahme einer Vorkultur als recht geeignet erwiesen hat, ist nachstehend das Verfahren von O. Lentz und J. Tietz aus dem klin. Jahrb. 14. 495 wiedergegeben:

Von der Stuhlverreibung werden zwei dicke Tropfen (von Harn 3 bis 4 Tropfen) auf einer Malachitgrünplatte verrieben und mit demselben Spatel unmittelbar weiter auf zwei große Lackmuslaktoseagarplatten ausgestrichen.

Alle Platten werden für 16 bis 20 Stunden dem Brütofen übergeben.

Danach werden die blauen Platten auf das Vorhandensein von Typhus- oder Paratyphuskolonien geprüft.

Das Aussehen der Typhuskolonien auf Lackmusplatten ist blau, glasig, tautropfenähnlich, ohne Nabel.

Es gibt mehrere andere Bakterien, die ebenfalls blaue Kolonien bilden; meist sind sie dicker oder, wie bei Bac. fluorescens, am Rande gezähnelt.

Kolonien der Paratyb. B werden nach 3 Tage langem Stehen bei Zimmertemperatur daran erkannt, daß sie rings von einen dicken, undurchsichtigen Schleimwall umgeben sind (s. S. 411).

Kolibakterien bilden rote, undurchsichtige Ansiedlungen.

Wenn keine Typhus- oder Paratyphuskolonien gefunden werden, muß man die grünen Platten prüfen:

Paratyphus B bildet nach 16- bis 20stündiger Bebrütung 2 bis 3 mm große, glasig durchscheinende, leicht milchig getrübte Kolonien, die den grünen Agar in ihrer Umgebung eben leicht gelblich färben.

Digitized by Google

Nach 24 Stunden hat er den ganzen Agar hellgelb gefärbt, bei sehr dicht stehenden Ansiedlungen auch schon nach 20 Stunden. Ganz sicher sind die Merkmale nicht, da es einige Koli- oder alkalibildende Stämme gibt, die dem Paratyphus B sehr ähnlich wachsen; dann bringt die Abschwemmung (s. unten) ein absolut sicheres Resultat.

Typhusbazillen sind nach 24 Stunden bereits mit bloßem Auge als kleine helle Kolonien zu erkennen. Nach längerem (2 bis 4 Tage langem) Aufenthalt im Brütschrank bilden sich große, kräftige, den Agar gelb färbende Kolonien aus.

Die gewöhnlichen Arten des Bact. coli, sowie eine ganze Reihe von alkalibildenden Bakterien werden auf dem Malachitgrünagar stark gehemmt oder ganz am Wachstum verhindert.

Wenn man auch bei diesen Untersuchungen der blauen und grünen Platten nichts Verdächtiges gefunden hat, wird die grüne Platte noch weiter verarbeitet. Zunächst läßt man sie noch im Brütschrank stehen, bis sie im ganzen 24 Stunden alt geworden ist.

Danach wird sie mit 8 bis 10 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung übergossen und 2 Minuten ruhig stehen gelassen.

Hierauf Hinundherbewegen der Platten durch mehrmaliges Neigen und leichtes Schwenken. Typhus- und Paratyphuskolonien lösen sich dabei auf und verteilen sich in der Flüssigkeit. Die dicken Kolikolonien dagegen lösen sich höchstens im ganzen ab und sinken dann zu Boden.

Die grüne Platte so auf die Kante stellen, daß die Flüssigkeit bis dicht an den Rand der Schale steigt.

Warten, bis sich die dicken Schollen zu Boden gesenkt haben, was in weniger als ½ Minute geschehen ist.

Von der Oberfläche der Aufschwemmung 1 bis 3 Oesen (1 Oese = 2 mg) abnehmen, je nach der Dicke des gewachsenen Rasens.

Die Oesen auf eine blaue Lackmusplatte übertragen und mit dem Glasspatel auf dieser und auf einer zweiten blauen Platte verreiben. Bei Verdacht auf Paratyphus wird entweder an Stelle dieser oder als dritte eine Malachitgrünplatte angewendet, um hier die Kolonien des Paratyphus B leichter zu erkennen.

Die Platten 16 bis 20 Stunden im Brütschrank stehen lassen und dann durchsehen.

Rote Fuchsinlaktoseplatten, die Lentz und Tietz nicht erwähnen, kann man natürlich ebenfalls als 2. oder 3. Verdünnung schon bei der ursprünglichen Aussaat der Abschwemmungsflüssigkeit von der grünen Platte oder von allem Anfang an, am besten neben blauen Platten nehmen.

Das Aussehen der Typhuskolonien auf Fuchsinagar ist farblos oder blaß, kreisrund, ohne Nabel, jedoch von der Mitte nach dem Rand zu deutlich abfallend. Falls der Nährboden von vornherein schwach rötlich war, sind sie von einem farblosen Hof umgeben.

Auch Paratyphusbazillen und Bac. enteritidis sind farblos und von einer hellen Zone umgeben.

Bac. fluorescens wächst ebenfalls farblos, die Kolonien haben aber gezähnelten Rand (F. Marschall, C. 38. 347).

Kolikolonien u. a. sind rot.

Digitized by Google

Weitere Prüfung der verdächtigen Kolonien. In der amtlichen Vorschrift (s. S. 412) heißt es unter II A, Ziffer 4, Abs. 2:

„Die auf den in der beschriebenen Weise angelegten Platten gewachsenen Kolonien werden zunächst durch Betrachtung mit dem unbewaffneten Auge auf Größe, Farbe und Durchsichtigkeit geprüft. Die auf Typhusbazillen verdächtigen Kolonien werden sodann auf dem Deckglase auf ihr Verhalten gegenüber stark agglutinierendem Typhusserum mikroskopisch untersucht und Reinkulturen von einer Anzahl derselben auf schräg erstarrtem alkalischem Fleischwasserpeptonagar angelegt.

Zur genaueren Untersuchung einer auf die beschriebene Weise gezüchteten Reinkultur dient

a) Prüfung auf Gestalt und Beweglichkeit,
b) die Agglutinationsprobe (s. B. 1),
c) Züchtung auf
   1. Bouillon,
   2. schräg erstarrter Gelatine,
   3. Neutralrot-Traubenzuckeragar,
   4. Lackmusmolke,
d) Züchtung auf Kartoffeln,
e) „ „ Gelatineplatten,
f) der Pfeiffersche Versuch,

} kommen nur in Frage, wenn Zweifel bleiben oder die Typhuskolonie aus Wasser, Dung oder einem anderen ungewöhnlichen Medium stammt.

Von jeder festgestellten Typhuskultur ist mindestens eine höchstens 20stündige Reinkultur auf schräg erstarrtem alkalischem Fleischwasserpeptonagar durch Zuschmelzen des Röhrchens luftdicht zu verschließen und für die spätere Nachprüfung, vor Licht geschützt, einen Monat lang bei Zimmertemperatur aufzubewahren."

Zur Agglutinationsprobe, die S. 272 f. abgedruckt ist, ist zu bemerken, daß unmittelbar aus dem Körper gezüchtete Tyb. nicht bloß auffallend wenig beweglich, sondern auch schwer agglutinierbar sein können und es erst in weiteren Generationen auf künstlichen Nährböden werden.

Aehnliches gilt auch für den Pfeifferschen Versuch (s. S. 267); insbesondere Typhusstämme, die von sogenannten Dauerausscheidern herrührten, haben sich auch in weiteren Züchtungen, obwohl sie gut agglutinabel waren, als wenig beeinflußbar von bakteriolytischen Seris, als bis zu einem gewissen Grade „serumfest" erwiesen (A. Besserer und J. Jaffé, DmW. 05. 2044).

Die Gelatinekultur wird gewöhnlich bei der Identifizierung unterschätzt, obwohl die Bildung längerer Stäbchen (Scheinfäden) auf ihr ein nicht zu vernachlässigendes Erkennungsmittel ist (s. S. 406). Wenn die Diagnose nicht auf den Tag eilt und mehrere verdächtige Kolonien, deren Zahl für den Anfänger größer ist als für den Geübteren, vorhanden sind, rate ich, die blauen Ansiedlungen auf Gelatine abzuimpfen. Dazu verteilt man auf einer sterilen Glasplatte mit einer sterilen Pipette etwa 20 Tropfen Nährgelatine. Nach der Erstarrung wird jeder mit einem Platindraht betupft, der in je eine verdächtige Kolonie der Lackmus- oder Fuchsinagarplatte getaucht worden war. Die Tropfen gewähren den Vorteil, daß man sie mit einem Wattebausch fortnehmen kann, wenn sie von der betreffenden Kultur ver-

Digitized by Google

flüssigt worden sind; auf einer ganzen Platte wären die benachbarten Impfstellen von ihr zu sehr bedroht.

Besäung und Untersuchung der Loefflerschen Malachitgrünnährböden. Grüne Agarplatten werden mit einem Glasspatel, wie S. 417 beschrieben, besät und mit dem Deckel nach unten in den Brütschrank gestellt. Die Typhuskolonien wachsen in bezeichnender Weise ganz flach, glattrandig, sind in der Mitte ein wenig dicker als am Rande und sehr durchsichtig wie Wassertröpfchen.

Grüne Gelatine mit Phosphorsäure wird, wie erwähnt, zur direkten Plattenaussaat und zur Vorkultur benutzt.

Es werden deshalb zwei Röhrchen, die je 20 ccm verflüssigter grüner Gelatine enthalten, mit je einem Tropfen z. B. von Stuhlaufschwemmung geimpft. Das eine Röhrchen wird zur Platte gegossen; nach eingetretener Erstarrung wird das Schälchen im Brütschrank bei 25° gehalten.

Das andere Röhrchen wird zur Vorkultur in einen anderen, auf 37° erwärmten Brütschrank gestellt.

Nach 12-, 18- und 24stündiger Bebrütung soll von der Vorkultur je ein Tropfen in Röhrchen, die 20 ccm grüner Gelatine enthalten, übertragen werden.

Anlegung weiterer Verdünnungen aus der Vorkultur dadurch, daß von den letztgenannten Röhrchen neue, 20 cmm grüner Gelatine enthaltende geimpft werden; und zwar mit 3 oder 2 oder 1 Tropfen, je nachdem das Ausgangsröhrchen 12 oder 18 oder 24 Stunden bebrütet gewesen war.

Alle Röhrchen werden in Schalen gegossen und diese nach erfolgter Erstarrung der Gelatine in den Brütschrank von 25° gesetzt.

Auf dichtbesäten Platten erkennt man die Typhuskolonien zwischen den zahllosen hellgrauen und graubraunen Kolonien anderer Bakterien als kleine, stark lichtbrechende, ovaläre Gebilde zuweilen mit kurzen Fortsätzen.

Derartige Kolonien werden abgestochen und durch weitere Plattenaussaat zu reinigen versucht.

Auf dünner besäten Platten sind die Typhuskolonien also gekennzeichnet:

Nach 20- bis 24stündigem Wachstum bei 25°: stecknadelkopfgroß, wasserhell, stark glänzend, hellgrau, gekörnt, rundlich, häufiger länglich. Die Mehrzahl der Kolonien zeigt außerdem die charakteristischen Fortsätze, so daß sie ein knochenkörperchen- oder milbenähnliches Aussehen darbieten; nach 36- bis 48stündigem Wachstum bei 25°: größer, graugelblich, Fortsätze viel zahlreicher als feine, borstenartige, bisweilen spiralig gewundene Fädchen.

Die weitere Prüfung erfolgt nach den früher angegebenen Regeln. Dazu sollen nach F. Loeffler auch die flüssigen grünen Lösungen herangezogen werden (DmW. 06. 289).

Ruhrerkrankungen.

Es gibt zweierlei Krankheiten: die Bakterienruhr und die Amöbenenteritis, beide in ihren klinischen und pathologisch-anatomischen Merk-

Digitized by Google

malen nicht ganz gleich, grundverschieden durch ihre Erreger. Die Bakterienruhr ist im Jahre 1898 in Japan von K. Shiga ätiologisch festgestellt worden, in anderen Ländern wurden die Befunde bestätigt, anderseits aber bei verschiedenen Epidemien bakterielle Infektionen gefunden, deren Erreger nicht genau mit dem Shigaschen Bazillus übereinstimmten. Die Amöbenenteritis ist viel länger bekannt.

Die Bakterienruhr.

Die im Jahre 1898 von K. Shiga in Japan, 1900 von W. Kruse im rheinisch-westfälischen Industriebezirk und später bei anderen Epidemien gefundenen Stäbchen gelten nach den zahlreichen seitdem angestellten vergleichenden Untersuchungen als identisch. S. Flexner hat mit L. F. Barker 1899 die tropischen Krankheiten unter den amerikanischen Truppen und den Eingeborenen in Manila studiert und einen dem genannten ähnlichen Bazillus als Erreger der tropischen Dysenterie beschrieben (C. 28. 625); dieser Bazillus ist verschiedenen serodiagnostischen Vergleichungen zufolge mit dem Shiga-Kruseschen nicht identisch (E. Martini und O. Lentz, ZfH. 41. 540), aber nahe verwandt (Ph. Eisenberg, WkW. 04). Die Unterschiede in der Kultur sind nur gering (s. unten).

Der **Bac. dysenteriae** Shiga-Kruse ist ein plumpes Kurzstäbchen mit abgerundeten, manchmal etwas verjüngten Enden; häufig liegen mehrere mit ihren Längsseiten aneinander (s. Taf. VIII, Fig. 46 und 47). In Stuhlausstrichen wurden sie auch in Zellen liegend gefunden. Sie sind fakultativ aerob und zeichnen sich durch eine so lebhafte Molekularbewegung aus, daß verschiedene Untersucher der Meinung waren, es handle sich um eigenbewegliche Stäbchen; allein mit Anwendung der besten Geißelfärbungsmethoden gelang es niemals, Bewegungsorgane darzustellen. (A i n l JG —).

Das Wachstum ist auf allen Nährböden gut, am meisten sagt ihnen die amphotere Reaktion zu (D o m b r o w s k y, AfH. 47. 243). Auf Gelatine bilden sie weinblattähnliche, nicht immer deutlich blätterrippenartige (s. R. Doerr, C. 34. 385), auf Agar kleine, durchscheinende, nicht irisierende Kolonien. Bouillon wird trüb, später in den oberen Schichten klarer, ein Oberflächenhäutchen fehlt. Indol wird nicht gebildet, Milch zwar leicht gesäuert, aber nicht zum Gerinnen gebracht, in Traubenzuckernährböden kein Gas gebildet, Neutralrot nicht verändert. Auf Lackmuslaktoseagar wachsen blaue Kolonien. Bei der Ersetzung der Laktose durch Maltose oder Mannit zu 1,3 % gelang es O. Lentz (ZfH. 41. 559), Unterscheidungsmerkmale zwischen den verschiedenen Stämmen deutlich zu machen. Für Oberflächenausstriche zeigte sich Mannit geeigneter. In der Stichkultur wird der Lackmusfarbstoff im Agar von

					Bac. Shiga-Kruse	Bac. Flexner
bei	Mannit	nach	24	Stunden	nicht verändert	rotviolett
„	„	„	48	„	„ „	rot
„	Maltose	„	24	„	„ „	violett
„	„	„	48	„	oben nicht verändert, unten aufgehellt	oben rot, unten aufgehellt.

Digitized by Google

H. Hetsch fand die Farbenveränderungen in flüssigen Nährlösungen viel deutlicher als im Agar und zwar schon nach 24 Stunden bei Brütschrankwärme deutlich genug; und wenn sich die geimpfte Nährlösung in Gärungsröhrchen befand, ließ sich darin außer Gas etwaige Gerinnselbildung aus dem Nutrosekasein erkennen. Mannit erwies sich brauchbarer; die Bereitung ist nach C. 34. 580:

Nutrose . .	10 g	Lackmuslösung (Kahlbaum)	50 g
Kochsalz . .	5 „	Mannit	20 „
Aq. dest. . .	1 l	10 Minuten kochen.	
2 Stunden kochen.			

Beide Lösungen auf 50° abkühlen lassen, dann gut vermischen, in sterile Reagenzröhrchen oder in Gärungskölbchen füllen und im Dampf sterilisieren, aber nicht länger als 15 Minuten.

Widerstandsfähigkeit. Die Ruhrbazillen sterben bei 50 bis 52° an Seidenfäden haftend und in Wasser untergetaucht in 30 Minuten, in 2proz. Sodalösung in weniger als 1 Minute; in 0,5proz. Phenollösung in 6 Stunden, in 1proz. in 30 Minuten, in 5proz. alsbald, ebenso in Sublimatlösung 1 : 20000; in nur 5- bis 10proz. Alkohol binnen wenigen Minuten (O. Lentz, Hdb. d. path. Mikr. 2. 309). Gegen Austrocknung fand sie E. Pfuhl weniger widerstandsfähig als Typhusbazillen, W. Kruse an Zeugstücken angetrocknet noch nach 3 Monaten lebend; an Seidenfäden im Exsikkator aufbewahrt halten sie sich etwa 1 Jahr (L. Heim).

Von Versuchstieren wurden vorwiegend Kaninchen benutzt; sie sterben nach Einspritzung von 1/20 Oese in die Venen oder von 1/10 Oese unter die Haut mit Durchfällen und Lähmungen innerhalb weniger Tage, Meerschweinchen an 1/3 Oese binnen 24 Stunden unter Auftreten von Durchfällen und starker Temperaturerniedrigung. Mit Chloroform abgetötete Kulturen wirken auf beide Tierarten ebenfalls tödlich, selbst noch in der Dosis von 1/2 bis 1 Oese unter ähnlichen Erscheinungen wie bei Einverleibung lebender Kulturen. Katzen können mit Ruhrbazillen vom Darm aus nicht infiziert werden.

Die Amöbenenteritis.

Sie ist bereits 1875 von Lösch in St. Petersburg, 1883 von R. Koch, dann von S. Kartulis in Aegypten und später von anderen Forschern in ihrer Ursache erkannt, und ihr Vorkommen auch in unseren Breiten erwiesen worden. Entamoeba histolytica nannte S. Kartulis den Erreger dieser ruhrähnlichen Darmerkrankung, bei der Geschwürbildung, aber keine diphtheritisch-fibrinöse Exsudation im Dickdarm vorkommt wie bei der Bakterienruhr (H. Jaeger, r. DmW. 02. 208). Die amöbenhaltigen Dejektionen sind pathogen für Katzen.

Die Stühle werden am besten frisch untersucht; erst in zweiter Linie kommt die Fixierung mit Osmiumsäuredämpfen in Betracht, der man eine Färbung mit Safranin folgen lassen kann. Man nimmt die schleimig-blutigen Flocken ohne weiteren Zusatz; feste oder dickflüssige, kotige Stellen sind mit physiologischer Kochsalzlösung zu verdünnen. Zur Untersuchung im hängenden Tropfen eignet sich ein Wärmemikroskop (s. S. 3), unbedingt nötig ist es nicht.

Digitized by Google

Die Amöben sind durchschnittlich 25 bis 30 μ groß und lassen einen Unterschied zwischen Entoplasma und Ektoplasma deutlich erkennen. Charakteristisch ist nach Jürgens, dem die nachfolgende Schilderung entnommen ist*), die völlig homogen scheinende, stark lichtbrechende Ektoplasmaschicht, wodurch sich die Amöben von allen anderen in den Entleerungen vorkommenden Gebilden unterscheiden. Das Ektoplasma ist stets gekörnt, verschieden groß und enthält viele Körperchen, darunter aufgenommene Bakterien, rote Blutkörperchen und andere, nicht so leicht zu deutende Gebilde; außerdem einen 4 bis 6 μ im Durchmesser haltenden Kern, in dem manchmal ein Kernkörperchen wahrzunehmen ist; er wird nach Zusatz von Essigsäure sehr deutlich und unterscheidet sich dann von den übrigen Inhaltskörperchen.

Die Gestaltsveränderungen der lebenden Amöben sind charakteristisch; das Ektoplasma schickt Fortsätze vor, in die das gekörnte Entoplasma nachzieht. Die Pseudopodien erscheinen als kurze, dicke Höcker von sphärischer Begrenzung, die sich durch ihre Stumpfheit von den spitzigen, fingerförmigen und granulierten der Leukozyten unterscheiden. Beim Absterben hört natürlich die Eigenbewegung auf, höchstens daß kurz vorher nach verschiedenen Richtungen hin noch Fortsätze ausgestreckt werden, worauf aber keine Einziehung mehr erfolgt. Danach verschwindet allmählich die Struktur. Dauerformen sind bisher nicht mit Sicherheit nachgewiesen worden.

Die Fixierung mit Osmiumsäuredämpfen soll an Amöben gemacht werden, die in lebhafter Bewegung begriffen sind. Dazu richte man zwei feuchte Kammern mittels Objektträger her, auf denen je ein Glasring aufgekittet ist. Der obere Rand jedes Glasrings wird mit etwas Wasser befeuchtet, damit das Deckgläschen während der Untersuchung mit der Oelimmersion daran haften bleibt. Auf den Boden der einen Kammer kommt ein Tröpfchen Wasser, auf den der anderen ein Tröpfchen 2proz. wäßriger Osmiumsäurelösung. Nachdem ein Deckgläschen vom Stuhl, mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, möglichst dünn bestrichen ist, wird es mit der Präparatseite nach unten auf die Wasserkammer gelegt und mikroskopiert; sobald man eine Amöbe in lebhafter Bewegung bemerkt, überträgt man das Präparat auf die Osmiumkammer und beobachtet mit der Oelimmersion weiter. Die genügende Fixierung wird an der eintretenden Bräunung erkannt. Legt man nun das Präparat auf einen gewöhnlichen Objektträger und setzt allmählich Glyzerin zu, dann läßt es sich für längere Zeit konservieren. Zur Färbung eignet sich am besten Safranin.

Die empfänglichen Versuchstiere sind die Katzen. Man spritzt jungen Tieren 0,1 bis 0,2 ccm der körperwarmen Masse ein und bedient sich dabei eines stumpfen Ansatzrohrs an die Spritze, das nur so weit eingeführt wird, bis der Sphincter ani überwunden ist. Ist die Impfung mit menschlichen Dejektionen einmal erfolgreich gewesen, dann gelingt die weitere Uebertragung von Katze zu Katze auf demselben Wege. Ihr Kot wird danach zwischen dem 4. und 7. Tag,

*) Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militärsanitätswesens, herausgegeben vom k. pr. Kriegsministerium. Heft 20, S. 110.

Digitized by Google

manchmal auch schon vom 1. Tag ab dünnflüssig; die Amöben erscheinen darin gewöhnlich schon in den ersten Tagen, bei älteren Tieren am 4. bis 7. bis 10. Tage; am Ende der 2. Woche pflegt der tödliche Ausgang einzutreten. Die Amöben finden sich zumeist nur im Dickdarm, der allein erkrankt, und zwar nicht bloß in den Geschwüren, sondern in deren Umgebung im Gewebe und selbst in völlig intakten Drüsen.

A. Lesage will in mehreren Fällen Züchtungen der Amöben außerhalb des Körpers bei 18 bis 25° zu stande gebracht haben, indem er amöbenhaltigen Schleim auf eine große Anzahl von Platten oder Röhrchen aussäte, die einfachen, 8 Tage lang mit viel sterilisiertem Wasser gewaschenen Agar enthielten. Zur Erzielung eingekapselter Amöben brachte er den amöbenhaltigen Schleim innen an die Wand eines zugedeckten Spitzglases, auf dessen Grund etwas sterilisiertes Wasser gegeben worden war. Nachdem er einige Tage bei 18 bis 25° in der feuchten Luft getrocknet hat, wird der Schleim, sowie das im Grunde des Glases befindliche Wasser auf einige Platten mit gewaschenem Agar ausgesät (AP. 05. 9).

Erkrankungen durch Fleisch kranker Tiere und durch verdorbene Nahrungsmittel.

Fleisch- und Wurstvergiftungen heißt man die hier einschlägigen Erkrankungen. Dieser noch viel gebrauchte Name deckt nicht alles, denn man sah die Erkrankungen nicht bloß nach Genuß von krankheitskeimhaltigem oder giftigem Fleisch, sondern auch von anderen Nahrungsmitteln, wie Milch, Käse, Vanilleeis, gesalzenen Fischen, gepökeltem Schinken, verdorbenen Konserven, selbst vegetabilischer Art (Bohnen), auftreten. Ueber die bakteriologische Prüfung von Fleischkonserven in Büchsen ist die Literatur in der Arbeit von E. Pfuhl, ZfH. 50. 317 zu verfolgen, über verdorbene Gemüsekonserven s. J. Belser, AfH. 54. 107.

Auf Grund der klinischen Erscheinungen läßt man die genannte Trennung bestehen und bezeichnet als Fleischvergiftung die mit Fieber, Erscheinungen von seiten des Magendarmkanals, Erbrechen und Durchfällen einhergehenden Erkrankungen, als Wurstvergiftung solche, bei denen Fieber und Erbrechen fehlen oder nur wenig hervortreten, dagegen Augenstörungen, Lähmungen und Störungen im Gebiete einzelner Nervenbahnen vorhanden sind.

Fleischvergiftungen sind der Hauptsache nach Infektionen (O. v. Bollingers septisch-pyämische Gastroenteritis), unter deren Erregern welche vorkommen, die selbst nach Abtötung bei hohen Hitzegraden noch giftig wirken. Im lebenden Zustande aber sind sie nicht bloß giftig, sondern auch infektiös. Dazu rechnet man die Erkrankungen nach Genuß von Nahrungsmitteln, die gewisse Bakterien der Koli-, der Proteus-, der Friedländergruppe, sowie kaseinpeptonifizierende sporenbildende Bazillen enthielten.

Bakterien der Koligruppe verursachen Infektionen und auch Vergiftungen. Von den klinischen Erscheinungen stehen die der fieberhaften Gastroenteritis im Vordergrund, man hat deren sowohl cholera- als typhusähnliche beobachtet; dabei Schwindel, Schwäche, Ohnmacht, auch Hautaffektionen, wie Urtikaria, Roseola, Erytheme, Petechien u. s. w.;

Digitized by Google

Augenstörungen fehlten, höchstens daß Erweiterungen der Pupillen genannt wurden. Der Ausgang war meist in Genesung, in 2 bis 5 bis 7 % der Fälle trat der Tod ein. Die dabei gefundenen Erreger der menschlichen Erkrankung sind auch als spontane Erreger von Tierkrankheiten anzusehen und können entweder unmittelbar mit dem Fleisch übertragen worden sein oder mittelbar durch Infektion mit anderen Nahrungsmitteln oder überhaupt erst durch Mittelspersonen oder in der weiteren Folge durch Ansteckung, die vom erkrankten Menschen auf seine nähere oder fernere Umgebung stattgehabt hat.

Die in Betracht kommenden Erreger sind mancherlei. Man kann sie wieder in 2 Untergruppen teilen, nämlich die der Gärtnerschen Enteritisbakterien und die des Paratyphus B. Die beobachteten Fälle waren durch unterschiedliche Arten veranlaßt; sie sind zunächst lediglich nach dem Namen des Entdeckers oder des Ortes, wo sie gefunden wurden, bezeichnet worden.

Bacillus enteritidis ist von A. Gärtner im Jahre 1888 als der Erreger einer in Frankenhausen durch das Fleisch einer notgeschlachteten Kuh verursachten Fleischvergiftung ermittelt (Jahrber. 4. 249) und seitdem öfters bei Erkrankungen nach Genuß von Fleisch septisch kranker, not- oder kaltgeschlachteter Tiere festgestellt worden. Es ist ein bewegliches Kurzstäbchen, das in Ausstrichpräparaten oft von einem Hofe umgeben erscheint, der nicht einer Kapsel entspricht, sondern von dem breiten Ektoplasma des Stäbchens herrührt (Taf. VIII, Fig. 48). Die Kolonien auf Gelatineplatten (Taf. VIII, Fig. 49) sind rundlich, grob gekörnt, doch kommen auch welche mit koliartiger Zeichnung vor, so daß eine Differenzierung auf diesem Wege, namentlich in der Sammlung länger fortgeführter Kulturen, nicht möglich ist. Indol wird nicht gebildet, Milch gerinnt nicht, wird jedoch nach etwa 10 Tagen gelblich, leicht durchscheinend und alkalisch. Traubenzucker wird unter Gasbildung vergoren, Bouillon unter Bildung eines Häutchens getrübt, Lackmusmolke schon am anderen Tage blau, Neutralrotagar zeigt Fluoreszenz, auf Lackmuslaktoseagar wachsen blaue Kolonien.

Mäuse, Meerschweinchen und auch andere Tiere gehen unter Reizungs- und Lähmungserscheinungen und dem Bilde der akuten Darmentzündung ein; die Bakterien lassen sich allenthalben im Körper nachweisen, auch im Darminhalt nach subkutaner oder intraperitonealer Infektion, eine Eigenschaft, die A. Böhme (ZfH. 52. 97) Enterophilie nennt, und die der ganzen Gruppe eigentümlich zu sein scheint. Die Kulturen wirken nach Abtötung selbst durch Siedehitze noch giftig, sie töten die Tiere, wenn sie unter die Haut oder in die Bauchhöhle tot eingeführt werden, und bei Verfütterung lösen sie wenigstens noch Krankheitserscheinungen aus. Aehnliches hat H. Schottmüller auch bei Kulturen des Paratyphus B beobachtet (MmW. 04. 350).

Den Agglutinationsversuchen von de Nobele zufolge gehören zur Gruppe des Gärtnerschen Bazillus (Hdb. d. path. Mikr. 2. 657) die

Digitized by Google

von E. van Ermengem in Morseele und Gent,
„ B. Fischer „ Rumfleth und Haustedt
„ de Nobele „ Brügge, Brüssel, Willebroek
gefundenen Bazillen.

Zur Gruppe des Paratyphus B, auch Gruppe der Hogcholera genannt, werden gerechnet (nach A. Böhme, ZfH. 52. 97 und de Nobele):

Bac. Aerthryck, den de Nobele gelegentlich einer Fleischvergiftung in Aerthryck isolierte;

Bac. morbificans bovis, von F. Basenau aus dem Fleische einer im Schlachthof zu Amsterdam notgeschlachteten Kuh 1893 gezüchtet (AfH. 20. 242);

Bac. cholerae suum oder Bac. suipestifer (W. Kruse), zuerst von Salomon und Th. Smith als Erreger der amerikanischen Schweinepest (Hogcholera) 1885 beschrieben;

Bac. paratyphosus alcalifaciens oder Bac. paratyphi B;

Bac. typhi murium, von F. Loeffler (C. 11. 129) bei einer spontanen Epidemie des Mäusebestandes im Greifswalder hygienischen Institut 1891 isoliert und seitdem vielfach zur Bekämpfung der Mäuseplage durch Auslegung infizierten Futters verwendet.

Nachdem ihn R. Trommsdorff bei mehreren Personen, die den in Milch gezüchteten Infektionserreger ausgelegt oder selbst eingenommen oder mit diesen Leuten in Verkehr gestanden hatten, im Darminhalte gefunden hatte (MmW. 03. 2092), sind von Reichs wegen Verhaltungsmaßregeln zur Verhütung von Gesundheitsschädigungen durch Beschäftigung mit Mäusetyb. erlassen worden (18. 3. 05; r. MmW. 05. 736), in denen übrigens den Bazillen eine Schädlichkeit für gesunde Erwachsene nicht beigemessen wird. Gg. Mayer, der während seiner Versuche mit Mäusetyb. selbst an ihnen erkrankte, wies ihre Uebertragbarkeit durch Ameisen nach (MmW. 05. 2261). A. Wassermann, R. Ostertag und J. Citron fanden den Mäusetyb. geeignet, um Schweine gegen Schweinepestbazillen zu immunisieren und empfahlen für die Praxis die Simultanbehandlung der Tiere mit diesen Baz. zusammen mit Schweinepestserum (ZfH. 52. 282).

Bac. psittacosis wurde von E. Nocard 1892 aus dem Knochenmark eines Papageien gewonnen, der der epidemischen Papageienkrankheit erlegen war; er geht, wie durch die späteren Untersuchungen französischer Forscher (s. Jahrber. 96. 496) sehr wahrscheinlich gemacht wurde, auf den Menschen über. Für die vorliegende Gruppe hat er eine größere Bedeutung, weil das Serum von Tieren (Kaninchen), denen die formalinisierten Kulturen intravenös eingespritzt wurden, nach A. Böhme eine wesentlich vielseitigere Agglutinationsfähigkeit gegenüber den übrigen hierher gehörigen Bakterien besitzt, als das monovalente Serum einer anderen Bakterienart; es wirkt ähnlich hoch agglutinierend auf alle verwandten Stämme wie das von H. Smidt (C. 38. 24) benutzte polyvalente Schweinepestserum der Höchster Farbwerke.

Weitere Bakterien der Fleischvergiftung:

Bac. enteritidis mucosus wurde von G. Gaffky ein wohl zur Gruppe der Friedländerschen Kapselbazillen gehöriges Stäbchen (A i nl JG —) genannt, das in Dejektionen von Kranken, sowie im Dünndarm und in der Lunge einer 3 Wochen nach der Infektion Ver-

Digitized by Google

storbenen gefunden wurde, und das wahrscheinlich durch den Genuß von Vanilleschneeballenspeise, also von gekochter und dann stehen gelassener Milchspeise übertragen worden war. Die Erkrankungen beschränkten sich auf den Haushalt und auf die 11 Personen, die davon genossen hatten. Sie boten die Erscheinungen des fieberhaften Brechdurchfalls; Augenstörungen und Lähmungen fehlten. Der gezüchtete Bazillus war für Mäuse und Meerschweinchen pathogen, mochte er subkutan einverleibt oder verfüttert worden sein (Festschrift für R. Koch 03. 365).

Proteusarten sind ab und zu bei gewissen Vergiftungen im Spiel gewesen, wo das genossene Fleisch nicht von erkrankten Tieren stammte, sondern erst nachträglich beim Lagern in Zersetzung übergegangen war, oder wo andere Nahrungsmittel dem Verderben ausgesetzt waren. So berichtete E. Levy von Proteusarten, die er sowohl an dem in Zersetzung begriffenen, in einem Eisschrank unrein aufbewahrten Fleisch, als im blutigen Erbrochenen und im Stuhl eines Verstorbenen fand; es waren 17 Personen in ähnlicher Weise erkrankt (r. C. 17. 471). Proteusvergiftungen durch Kartoffelsalat klärte A. Dieudonné auf (r. DmW. 04. 191). Die zum Salat benötigten Kartoffeln waren geschält und zerschnitten über Nacht bei hoher Außentemperatur stehen geblieben und erst am folgenden Tage zu Salat verarbeitet worden; es erkrankten 50 Soldaten mit Erbrechen, kolikartigen Schmerzen, Kopfschmerz, Schwindel, Krämpfen, namentlich Wadenkrämpfen und Frostgefühl; Fieber und Augenstörungen fehlten. Alle genasen bald. Mit den Kartoffelsalatresten gefütterte Mäuse erkrankten nach 4 und starben nach 24 Stunden mit wenig Proteusbakterien in den Organen. Von den daraus gewonnenen Kulturen waren die in Bouillon gezüchteten für Mäuse unschädlich, ob sie subkutan, intraperitoneal verimpft oder verfüttert worden waren; dagegen starben die Mäuse in 18 bis 24 Stunden unter den Erscheinungen heftigen Darmkatarrhs, wenn sie mit 12 bis 24 Stunden alten Kartoffelkulturen gefüttert worden waren. Auch steriles Fleisch, das 24 Stunden nach der Impfung intensiv faulig roch, tötete die Mäuse nach Verfütterung. Ratten und Meerschweinchen blieben in jedem Falle gesund.

Bac. peptonificans ist von Lubenau in Königsberger Klopsen gefunden worden, nach deren Genuß 400 Insassen einer Anstalt mit Durchfall, Erbrechen und Leibschmerzen erkrankten und wieder genasen. Die Sporen des das Kasein der Milch peptonisierenden Bazillus (s. Milch) hielten 2stündige Dampfwirkung aus. Die Sporen waren für junge Hunde — die einzigen Tiere, die sich in solchen Fällen zum Versuch eignen (C. Flügge, ZfH. 17. 272) — unschädlich, dagegen erkrankten 4 bis 5 Monate alte Hunde mit zum Teil blutigen Durchfällen und leichten Lähmungserscheinungen, wenn ihnen die vegetativen Formen gegeben wurden; um zu diesem Zweck die Sporenbildung hintanzuhalten, wurde die zur Züchtung verwendete Milch vorher mit 2% Pepton versetzt. Das Gift ist in den Bakterienleibern enthalten, denn Filtrate von Bouillonkulturen wirkten nicht giftig, wohl aber enthielten sie ein Hämolysin, wenn die mit Liebigs Fleisch-

Digitized by Google

extrakt bereitete Bouillon keinen Zusatz von Kochsalz erhalten hatte. Der betreffende Bac. peptonificans (A m p JG +) wuchs auch bei 10° noch gut und bildete auf Gelatine lockige Kolonien mit dicht geästeten oder gelockten Büscheln als Ausläufern (C. 40. 433).

Um bei etwaigem Verdacht auf Vergiftungen mit derartigen Sporenbildnern den Nachweis im Kot der erkrankten Menschen oder infizierten Tiere zu erbringen, soll man, da in den Entleerungen nur wenig oder keine Sporen zu erwarten sind, nach A. Lübbert den Kot ausfaulen lassen, dann bilden sich mit der Zeit sehr widerstandsfähige Sporen und der Nachweis gelingt leicht (ZfH. 22. 1).

Wurstvergiftung (Botulismus, Allantiasis). Diese gesondert stehende Krankheit wird durch Anaerobier verursacht, die, ohne an sich pathogen zu sein, heftige Giftwirkung ausüben und an Speisen vorkommen, die durchaus nicht die Zeichen ausgesprochener Fäulnis aufzuweisen brauchen.

Die Erkrankung verläuft ohne Fieber; Durchfall und Erbrechen sind höchstens vorübergehend vorhanden, es besteht im Gegenteil Stuhlverstopfung, außerdem Urinverhaltung; die Erscheinungen sind hauptsächlich solche von seiten einzelner Gehirnnervenbahnen und äußern sich in Augenstörungen, wie Akkommodationsstörung, Mydriasis, Ptosis, Doppeltsehen, ferner in Aphonie, Dysphagie u. s. w., während Bewußtseinsstörungen fehlen. Der Verlauf ist chronisch; in etwa 25 bis 30% der Fälle erfolgt der Tod durch Bulbärparalyse. Diese früher öfters nach Genuß von Leber- und Blutwurst beobachteten, darum sogenannten Wurstvergiftungen kommen heute, wenn auch seltener, immerhin noch vor, und sind nach Genuß unzweckmäßig konservierter Speisen, die unter Luftabschluß aufbewahrt wurden, also in eingepökelten Fleischwaren oder in Konserven, auch vegetabilischen (Bohnen) beobachtet worden. Ihre bakteriologische Erklärung fanden sie durch E. van Ermengem gelegentlich der Untersuchung einer im Dezember 1895 in Ellezelles vorgekommenen Vergiftung nach Genuß von gepökelten Schinken.

Der **Bac. botulinus** (van Ermengem) ist ein obligater Anaerobier AA m p JG +. Die wenig beweglichen, mit 4 bis 8 seitenständigen Geißeln versehenen Stäbchen bilden endständige, ovale Sporen von verhältnismäßig geringer Widerstandsfähigkeit, denn sie werden bei 80° in einer Stunde sicher abgetötet (s. Taf. IX, Fig. 56). Auf Gelatine wachsen bräunliche, undurchsichtige Ansiedlungen, mit strahligen, später fingerförmigen Ausläufern unter Verflüssigung des Substrats. Die Reaktion darf nicht sauer sein. In zuckerhaltigen Nährböden wird Gas gebildet. Das Temperaturoptimum ist 18 bis 25°, bei Körperwärme wächst der Bac. botul. spärlicher und mit Involutionsformen, in Bouillon bei 37 bis 38,5° mit langen, verwickelten und verschlungenen Fäden. In Bouillon hat der Bazillus vom 4. Tag an seine höchste Giftigkeit, wenn bei 18 bis 25° gezüchtet wurde. Er ist also an die Körperwärme nicht gut angepaßt, vermag im Tierkörper nicht zu parasitieren, ist vielmehr ein Saprophyt, der den Körper durch das von ihm auf dem toten Substrat gebildete Gift schädigen kann. E. van Ermengem stellte deshalb mit ihm eine neue Klasse von Mikroorganismen, die „pathogenen Saprophyten" auf. Im befallenen Menschen oder im geimpften Tier ist er in der Regel nicht mehr zu finden, höchstens nach Einimpfung von sehr großen Mengen.

Digitized by Google

Die Giftigkeit ist für die gebräuchlichen Versuchstiere, sowie Katzen und Affen beträchtlich. Bei Verfütterung sterben Mäuse an kleinsten Mengen mit Lähmungserscheinungen der hinteren Gliedmaßen binnen weniger Stunden, Meerschweinchen an 1 bis 2 Tropfen Bouillon- oder Gelatinekultur unter Lähmungserscheinungen in 24 bis 36 Stunden, Kaninchen dagegen an 5 bis 10 ccm innerhalb 48 Stunden noch nicht sicher. Katzen, Hunde und Hühner zeigen nach Eingabe der Bazillen in den Magen wenig oder keine Erscheinungen. Gegen subkutane Einführung sind sie dagegen sehr empfindlich, nur müssen die Gaben etwas höher sein als bei anderen Versuchstieren; es sterben:

Katzen an 5 bis 10 ccm in 36 bis 46 Stunden,
„ „ 1 „ 5 „ „ 6 „ 8 Tagen,
Affen an 1 bis 2 Tropfen in 24 bis 36 Stunden,
Meerschweinchen an 0,05 bis 0,1 mg in 3 bis 4 Tagen,
Kaninchen an 0,1 bis 0,5 ccm in wenigen Stunden,
„ „ 0,3 „ 1 mg „ 36 bis 48 Stunden.

Die Krankheitserscheinungen erinnern sehr an diejenigen beim Menschen. Aehnlich wirkt das von den Bazillen abfiltrierte Gift. Es wird bei 80° in ½ Stunde unwirksam, fast augenblicklich durch Hinzufügen von 3% Sodalösung, langsamer durch Einwirkung von Licht und Luft, dagegen wird es durch Fäulnis nicht nennenswert verändert; es wird wie das Tetanustoxin vom Zentralnervensystem fixiert; die 3fach tödliche Dosis für Mäuse wird nach A. Wassermann durch 0,1 ccm. einer Emulsion von Zentralnervensystem unschädlich gemacht.

Ueberstehen die Tiere die Krankheit, dann sind sie gegen wiederholte Impfung unempfindlich. W. Kempner hat ein antitoxisches Serum gewonnen, das gegen die 10fach tödliche Fütterungsdosis wirkt, wenn es 30 Stunden vor dem Gift eingespritzt, aber auch bis zu einem gewissen Grade noch heilend wirkte, wenn es den Tieren 24 Stunden nach der Gifteinverleibung gegeben wurde (nach E. van Ermengem Hdb. d. path. Mikr. 2. 667). Der giftig wirkende Bestandteil ist kein Endotoxin, denn gewaschene Bazillen, d. h. solche, die 10- bis 20mal in Wasser aufgeschwemmt und dann wieder 'auszentrifugiert worden waren, erwiesen sich für Mäuse selbst in großen Mengen unwirksam, wie G. Landmann an dem aus Bohnenkonserven erhaltenen Bac. botulinus feststellte (HR. 04. 449).

Untersuchungsverfahren bei Verdacht auf Fleisch- oder Wurstvergiftung. Wenn die Erkrankungen auf den Genuß von Fleisch kranker Tiere zurückgeführt werden können, und bei den Patienten Fieber und Erscheinungen von seiten des Magendarmkanals und andere bei den Bakterien der Koligruppe S. 424f. genannte Symptome vorhanden gewesen sind, wird man an diese Gruppe denken.

Wenn dagegen Fieber und Magendarmerscheinungen nur gering waren oder fehlten, wenn Augenstörungen und andere Symptome seitens einzelner Gehirnnervenbahnen beobachtet wurden, liegt der Verdacht auf den anaeroben Bac. botulinus vor.

Digitized by Google

Man wird sich dabei nicht irremachen lassen, wenn es heißt, das Fleisch sei gekocht genossen worden; denn größere Fleischstücke oder Konserven, wie sie im Einzelhaushalt bei ungenügender Sterilisierungseinrichtung zubereitet werden (wie die Bohnen in dem Darmstädter Fall), erreichen in ihrem Inneren sehr lange nicht die erforderliche Hitze.

Bei größeren Fleischstücken ist ferner der von E. van Ermengem betonten Tatsache zu gedenken, daß einzelne Teile der gesamten Masse unschädlich sein können, während andere, oft sehr begrenzte Teile, die sich in der Tiefe befinden, höchst giftig sind.

A. Eingesandtes Material, das die Vergiftung hervorgerufen haben soll, wird folgendermaßen verarbeitet:

a) Zur Kultur:

1. Anlegung von Gelatineplatten.

2. Ausstriche auf Lackmuslaktoseagar oder auf einen ähnlichen Zwecken dienenden Nährboden.

3. Plattenkulturen unter anaerobiotischen Bedingungen oder eine größere Anzahl Verdünnungen in Reagenzgläsern in hoher Schicht (s. S. 146 f.).

4. Eintragungen in 4 Röhrchen mit Zuckerbouillon, von denen 2 wie gewöhnlich, 2 anaerob aufbewahrt werden.

5. Ein Teil des Materials (bei geringen Mengen genügt ein erbsengroßes Stück) wird in Bouillon gelegt und 15 Minuten im Wasserbad auf 80° erwärmt, dann anaerobiotisch, am besten unter Wasserstoff gehalten.

Die Züchtung geschehe wenigstens mit einem Teil der Proben, jedenfalls mit den anaerobiotischen bei nicht über 24°.

b) Zur Prüfung auf Giftigkeit. Es wird ein Stück mit physiologischer Kochsalzlösung kräftig geschüttelt, dann die Flüssigkeit erst durch Papier, nachher durch Asbest filtriert. G. Landmann nahm bei wenig Versuchsmaterial ein bohnengroßes Stück auf 5 ccm Kochsalzlösung und spritzte vom Filtrat zwei Mäusen je 0,5, zwei anderen je 0,1 ccm unter die Haut. Hierauf wird das Filtrat gekocht und in derselben oder der doppelten Dosis verimpft.

Die Untersuchung der gewachsenen Kulturen erfolgt nach den einschlägigen Regeln.

Die zur Identifizierung gebräuchlichen Agglutinationsversuche sind insbesondere nötig, wenn Bakterien der Koligruppe gefunden wurden, wozu man geeignete hochwertige Sera der Paratyphus- oder Enteritidisbakterien haben muß. Man kann auch Tiere mit den gezüchteten Bakterien vorbehandeln und ihr Blut gegenüber jenen Stämmen oder anderen Fleischvergiftern prüfen.

Die herausgezüchteten Kulturen müssen außer auf Pathogenität auf Giftigkeit geprüft werden, wobei an das bereits Erwähnte erinnert sei: Bac. enteritidis und verwandte haben ein hitzbeständiges Gift, das nicht durch Kieselgur und ähnliche Filter geht, das Gift der Proteusarten erscheint nur bei Züchtung auf Kartoffeln und auf sterilisiertem Fleisch, das Gift des Bac. botulinus ist filtrierbar, wird aber durch Kochen zerstört.

Digitized by Google

B. Die Prüfung des Blutserums der Erkrankten vermittels der Agglutinationsreaktion hat sich sowohl auf die Stämme zu erstrecken, die allenfalls aus dem Körper oder den Entleerungen und insbesondere aus den betreffenden Speisen gezüchtet wurden, als auch auf Reinkulturen der verschiedenen einschlägigen Fleischvergifter. Es ist dabei einerseits in Betracht zu ziehen, daß frisch aus dem Körper gezüchtete Bakterien schwer agglutinabel sein können, anderseits daß man mit der Agglutination nicht immer im stande ist, sicher herauszubringen, welcher der verwandten Stämme tatsächlich als der Erreger anzusprechen ist. E. Levy und W. Fornet haben auf Grund ihrer Untersuchungen bei einer Familienepidemie von Nahrungsmittelvergiftung (wahrscheinlich veranlaßt durch Bac. paratyphi B) die Forderung aufgestellt, daß man bei der Prüfung von Patientenserum zur Diagnose nur leicht agglutinable Stämme verwenden soll, d. h. bei den zur Hogcholera gehörigen Bazillen, ebenso wie bei Bac. typhi und Bac. paratyphi A solche Stämme, die schon längere Zeit auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet worden sind (C. 41. 161).

Cholera asiatica.

Vibrio cholerae. R. Koch entdeckte den Erreger 1884 in Aegypten und Indien. Die kleinen schwach gekrümmten Gebilde wurden von ihm Kommabazillen genannt; der Name Vibrio chol. stammt von H. Buchner. Sie sind kürzer, aber dicker als Tuberkelbazillen, haben abgerundete Enden und sehen oft mehr gerade gestreckt aus, je nach der Wuchsform oder der Lage, in der sie sich befinden, d. h. wenn sie dem Beschauer die gewölbte Seite zukehren. Kommt die Abtrennung der einzelnen Viertelschraubenabschnitte nicht vollständig zu stande, dann bleiben **S**-Formen oder längere Spirillen, bei besonderer Aneinanderlagerung zweier Vibrionen können ε-Formen entstehen.

Im hängenden Tropfen bewegen sich lebenskräftige Vibrionen schraubenförmig und außerordentlich schnell mit einer Geißel am Pol, (Taf. X, Fig. 61). Solche mit mehr als einer Geißel sind keine Choleravibrionen. (A m p JG —).

Die beste Färbung ist mit Fuchsin, z. B. verdünntem Karbolfuchsin; unverdünntes macht helle Stellen im Inneren. Alte Kulturen enthalten fast ausschließlich kleine, runde Kügelchen, die sich ziemlich ablehnend gegen die Farbstoffe verhalten. Es sind Entartungs- oder Untergangsformen, aber keine Dauerformen, keine „Arthrosporen".

Die Widerstandsfähigkeit ist verhältnismäßig gering, geringer als die der Typhusbazillen und vieler anderer. Sie gehen z. B. bei 60° in 5 bis 10 Minuten zu Grunde, desgleichen bei ebensolanger Einwirkung von Chloroformdämpfen, verdünnten Säuren, ½ proz. Phenollösung. Gegen Austrocknung sind sie sehr empfindlich. An Seidenfäden haftende halten sogar im Exsikkator nicht länger als 2 bis 14 Tage (S. Kitasato, ZfH. 5. 134); ausnahmsweise erhielt Berckholtz noch von 6 Monate lang getrockneten Choleraseidenfäden Kulturen. Mit Fäkalien an Zeugstücke getrocknet fand sie J. Karlinski bis zu 36 Tagen lebensfähig (C. 17. 177). In faulenden Fäces gehen sie manchmal schon in 1 bis 3, in der Regel innerhalb 20 Tagen zu Grunde und bleiben selten bis zu 30 Tagen lebend (R. Abel und R. Claußen, C. 17. 77).

Digitized by Google

Die Züchtungsmerkmale sind bei längere Zeit im Laboratorium auf künstlichen Nährböden fortgeführten Stämmen nicht ganz so wie bei frisch aus dem Körper erhaltenen, insbesondere nimmt mit der Zeit die Wachstumsenergie und das Peptonisierungsvermögen ab. Durch Züchtung auf Nährböden mit gekochtem Blut läßt sich hier etwas nachhelfen.

Das ganze Blut oder auch nur der vom Serum befreite Blutkuchen vom Rind, Pferd oder Schwein wird mit der gleichen Menge Wasser übergossen im Dampf behandelt, noch möglichst heiß durch ein Tuch gepreßt und filtriert. Die leidlich klare, später trüber werdende Flüssigkeit reagiert schwach alkalisch und läßt sich mit Vorteil zur Anreicherung benutzen. Sie muß wegen der hitzbeständigen Sporen sorgfältig sterilisiert werden. Zusatz von Agar gibt ohne weiteres ein brauchbares Substrat; nach Gelatinezusatz muß neutralisiert und alkalisiert werden (L. Heim, C. 30. 570).

Gelatineplatten weisen bei entsprechendem Keimgehalt und nicht zu niedriger Temperatur bis zum nächsten Tage, bei 22° bereits nach 15 bis 20 Stunden eine feine Mattierung, wie wenn sie mit vielen Nadelstichen punktiert worden wären, auf. Das Aussehen der Cholerakolonien zeigt Taf. X, Fig. 59; junge Ansiedlungen sind bei schwacher Vergrößerung farblos, lichtbrechend, mit gerauhtem Rande und granuliertem Inneren; ältere sind wie aus stärker lichtbrechenden Körnchen zusammengesetzt, derart, daß R. Koch ihr Aussehen mit dem eines Häufchens von Glasbröckchen verglichen hat. Der Verflüssigungshof macht sich schon bald als heller Saum bemerkbar, mehr und mehr sinkt die Kolonie in die trichterförmig verflüssigte Gelatine ein; bei Einstellung des Miskroskops auf sie erscheint der umgebende Gelatinewall als Schatten, bei langbrennweitigen Objektiven als schwarzer Ring. Aeltere Laboratoriumskulturen fallen durch die Bildung gelblicher Ansiedlungen mit gröberer Zeichnung und zerfasertem, selbst gelapptem Rande auf.

Im Gelatinestich bildet sich ein oben ausgebuchteter, unten spitz (nicht strumpfförmig) endigender Trichter, rascher und größer in Blutwassergelatine; im unteren Teil sammeln sich gelbliche Knäuel in spiraligen Windungen, die überstehende verflüssigte Gelatine ist klar, oft mit einem Oberflächenhäutchen.

Auf Agarplatten sind die Ansiedlungen weniger charakteristisch, zeichnen sich aber bei auffallendem Lichte durch Transparenz aus. Die Agaroberfläche soll trocken sein, damit ein Zusammenfließen verhindert wird.

Einen dem Lackmuslaktoseagar ähnlichen, aber weniger harten und weniger alkalischen Agar ohne Nutrose haben Hirschbruch und Schwer empfohlen und also bereitet:

100 ccm verflüssigter Nähragar von ganz schwach alkalischer Reaktion wird in ein Kölbchen über 1,5 g Milchzucker gegossen und ¼ Stunde im siedenden Wasserbade gehalten; dann wird zugesetzt:

Azolithmin 0,04 in wenig Wasser durch Kochen gelöst;

0,1 proz. Kristallviolettlösung 1 ccm.

Abkühlen lassen auf 45° und in Petrischalen verteilen. Nach Erstarrung und Trocknung Ausstreichen des Impfmaterials.

Die Cholerakolonien sind unter den blauen zu suchen; die weitere Erkennung der Vibrionen geschieht im hängenden Tropfen und durch die Agglutination mit hochwertigem Serum (C. 36. 144).

Digitized by Google

K. Besser erachtete den Nährboden für geeignet, wenn er mit Rindfleischbouillon hergestellt, in nicht zu dicker und nicht zu dünner Schichte, etwa zu 10 bis 12 ccm in die Petrischälchen gegossen und mit dem Glasspatel besät wird; die Untersuchung soll nach 14stündigem Verweilen im Brütschrank erfolgen (C. 41. 286). Dagegen haben Doebert und A. Johanissian erwiesen, daß durch den Kristallviolettzusatz die Cholerakeime gehemmt werden, weniger Kolonien erscheinen und die gewachsenen in ihrer Größenbildung erheblich beeinträchtigt sind.

Bouillon wird getrübt, es bildet sich ein Oberflächenhäutchen von faltigem und welligem Aussehen, das bei frisch aus dem Körper gezüchteten Stämmen mitunter fehlen soll. Durch ihr beträchtliches Sauerstoffbedürfnis lassen sich die Choleravibrionen von vielen anderen Keimen trennen. Das „Anreicherungsverfahren" ist für Stuhluntersuchungen zuerst von M. Schottelius benutzt worden (DmW. 85. 213).

Peptonwasser aus 2 g Pepton, 1 g Kochsalz und 100 ccm Wasser eignet sich noch besser als Bouillon. Für den Nachweis der Vibrionen im Wasser werden größere Mengen in diesem Verhältnis mit Pepton und Kochsalz versetzt, selbstverständlich ohne folgende Sterilisation (L. Heim, C. 12. 353).

Blutkuchenwasser als solches oder mit Gelatine oder Agar zum festen Substrat verarbeitet, befördert das Wachstum der Choleravibrionen in hervorragendem Maße und ist der geeignetste Nährboden, den man kennt (s. S. 94). Nur muß man sorgsam sterilisieren, damit nicht Sporen von Tierhaaren stören; schon G. Gaffky hat in seinem ersten Cholerabericht die Gefährdung der Choleravibrionen durch Ueberwuchern von Gartenerde- und ähnlichen Bazillen in flüssigen Nährlösungen genannt (KGA. Arb. 3. 165).

Die Nitrosoindolreaktion wird durch Zugeben einiger Tropfen Mineralsäure (Schwefelsäure) deutlich, am schönsten in Pepton- oder in Blutkuchenwasser, weil das nötige Nitrit aus dem Pepton von den Vibrionen neben Indol gebildet wird (s. S. 231).

Milch wird gesäuert, gerinnt aber nicht; in der säuernden Milch werden die Vibrionen geschädigt (W. Hesse, ZfH. 17. 238).

Kartoffeln eignen sich nicht immer zur Kultur; die Choleravibrionen wachsen auf ihnen gewöhnlich nur bei Körperwärme und zwar mit Bildung eines graubräunlichen bis braunen Rasens. Wenn man aber die schräg halbierten Kartoffelzylinder mit einer sterilen Lösung von 2 bis 3 % Kochsalz oder $^1/_4$ bis $^1/_2$ % Soda überschichtet, so lange wartet, bis sie einen gelben Ton annehmen, und dann abgießt, läßt sich auch bei 20° auf ihnen Wachstum erzielen (O. Voges, C. 13. 543).

Versuchstiere. Bei Meerschweinchen erzielte R. Koch durch Einführung von 10 ccm Bouillonkultur mittels Schlundsonde in den Magen Erkrankung mit tödlichem Ausgang, wenn der saure Magensaft vorher durch 5proz. Sodalösung neutralisiert und die Peristaltik durch Einspritzung von 1 ccm Opiumtinktur auf je 200 g Tier in die Bauchhöhle vermindert worden war. Erliegen die Tiere einer derartigen Behandlung, dann erscheint der Dünndarm stark gerötet und schwappend mit einer wäßrigen, flockigen, farblosen Flüssigkeit, die die Choleravibrionen fast in Reinkultur enthält, gefüllt (BkW. 85,

Digitized by Google

Nr. 37a, S. 7). In den inneren Organen finden sich in der Regel weder beim Menschen noch beim Tier Vibrionen. Umgekehrt aber trifft man sie beim intraperitoneal infizierten Meerschwein im Innern des Darms (C. Fraenkel, HR. 94. 582). Virulente Kulturen töten Meerschweinchen, wenn Bruchteile einer Oese in die Bauchhöhle gespritzt werden, durch das in den Bakterienleibern enthaltene Gift (Näheres s. S. 239 und 264).

Gegenüber der bisherigen Erfahrung, daß subkutane Infektion, namentlich bei kleinen Gaben, erfolglos bleibt, berichtet M. Hahn, daß zwei von ihm 1904 in Rußland aus Kranken gewonnene Stämme in der Dosis von 1/4 Oese rapid verlaufende Septikämie erzeugten, mochten sie unter die Haut oder in die Bauchhöhle gespritzt worden sein, während es bei anderen Stämmen zur Wirkung von der Haut aus einer etwas erhöhten Gabe bedurfte (BkW. 05. 29).

Wenn es auch gelungen ist, andere Tiere künstlich zu infizieren, wie junge, noch mit Milch ernährte Kaninchen (E. Metschnikoff) oder die Zieselmaus, Spermophilus guttatus (D. Sabolotny), wenn anderseits Hunde, Katzen und Tauben durch Einspritzung nicht oder nur im Jugendzustande oder erst mit größeren Mengen getötet werden konnten, so kommt das für die Choleradiagnose doch nicht wesentlich in Betracht; die Serumreaktionen sind weit sicherer und ausschlaggebender.

Serumreaktion. Alle bei der Suche nach Choleraerregern gefundenen Vibrionen, mögen sie morphologisch und in der Kultur den echten noch so ähnlich sein, müssen mit hochwertigem Serum auf ihre Identität geprüft werden. Denn es kommen gerade zu Cholerazeiten im Darm auch von Cholerakranken, insbesondere im Wasser nahe verwandte oder wenigstens sehr ähnliche Vibrionen vor, die nur mit Hilfe der Agglutination oder mit dem bakteriolytischen Versuch richtig erkannt oder von den Choleravibrionen getrennt werden können. Die Anweisungen dazu s. S. 265 und 271.

Hämolysinbildung fehlt den Choleravibrionen. Zwar bemerkt man bei verschiedenen Kolonien auf Blutagarplatten eine mehr oder weniger starke Aufhellung des roten Substrates, so daß ein heller Hof entsteht, einige Stämme zeigen aber diese Erscheinung nie und niemals ist eine Hämolysinwirkung der Kulturfiltrate zu erkennen gewesen (s. S. 235f.). Nur die Stämme aus El Tor machen nach R. Kraus, E. Pribram und A. Prantschoff eine Ausnahme (C. 41. 15 und 377).

Choleraähnliche Vibrionen. Auf die Hämolysinbildung gründet sich eine Unterscheidung der verschiedenen Arten, auf Grund deren Meinicke, der unter 23 untersuchten Stämmen 12 mit Hämolysinwirkung ihrer Kulturfiltrate gefunden hat, folgende Einteilung traf:

A. Vibrionen, die ein filtrierbares Hämolysin bilden:

Sie sind sämtlich eingeißelig, geben die Rotreaktion, verflüssigen die Gelatine gut und bilden helle Höfe auf Blutagarplatten.

1. Untergruppe: Formen mittlerer Länge mit Pathogenität für Tauben (Vibrio Metschnikoff).
2. Untergruppe: Auffallend lange Formen, hohe Pathogenität für Meerschweinchen, saftige, undurchsichtige Kolonien auf Gelatine; sehr starkes Verflüssigungsvermögen.

B. Vibrionen ohne Bildung eines filtrierbaren Hämolysins:

Sie verändern sämtlich die Blutagarplatte nicht.

1. Untergruppe: Mehr als 1, im Durchschnitt 4 Geißeln; Formen mittlerer bis großer Länge; Verflüssigungsvermögen für Gelatine ver-

Digitized by Google

loren gegangen und meist keine Rotreaktion; keine Pathogenität für Tauben und meist auch keine für Meerschweinchen.

2. Untergruppe: Nur 1 Geißel; ziemlich kurze Formen; keine oder sehr späte Verflüssigung der Gelatine; keine Cholerarotreaktion; keine Pathogenität für Tauben, teilweise auch keine für Meerschweinchen.

Die bakteriologische Choleradiagnose.

Die Erreger sind ausschließlich im Magendarmkanal, in den Fäces und im Erbrochenen zu suchen und zwar nicht bloß beim merklich Erkrankten, sondern auch beim Rekonvaleszenten und bei manchen scheinbar oder wirklich gesunden Personen der Umgebung des Cholerakranken, die selbst in geformten Stühlen Choleravibrionen beherbergen können. Diese sogenannten Bazillenträger müssen nach den R. Kochschen Maßnahmen zur Bekämpfung der Cholera so lange isoliert werden, bis die Untersuchung die Abwesenheit von Choleravibrionen in ihren Dejektionen ergeben hat.

Die „Anweisung zur Bekämpfung der Cholera", festgestellt in der Sitzung des Bundesrats vom 28. Januar 1904, Amtliche Ausgabe, Berlin 1904, enthält in der Anlage 6 und 7 nachstehende hier einschlägige Bestimmungen (wörtlich nach S. 35 bis 43 der Anweisung mit den durch k. pr. Erlaß vom 21. Okt. 1905 [KGA. Veröff. 06. 56] in Ziffer 4 a und b der Anlage 7. 1 getroffenen kleinen Abänderungen.

Anweisung zur Entnahme und Versendung choleraverdächtiger Untersuchungsobjekte.

A. Entnahme des Materials.

a) Vom Lebenden.

Etwa 50 ccm der Ausleerungen*) werden ohne Zusatz eines Desinfektionsmittels oder auch nur von Wasser aufgefangen. Ferner wird auf eine Anzahl Deckgläschen — von jeder Probe 6 — je ein kleines Tröpfchen der Ausleerungen, womöglich ein Schleimflöckchen, gebracht, mit einer Skalpellspitze fein verteilt und dann mit der bestrichenen Seite nach oben zum Trocknen hingelegt (Ausstrichpräparate). Endlich empfiehlt es sich, gleich an Ort und Stelle drei schräg erstarrte Agarröhrchen (ein Original und zwei Verdünnungen) mit einer Oese des Darminhalts oberflächlich zu impfen und mitzusenden. Die hierzu erforderlichen Agarröhrchen sind von der nächsten Untersuchungsstelle zu beziehen.

Frisch mit Ausleerung beschmutzte Wäschestücke werden wie Proben von Ausleerungen behandelt.

Handelt es sich um nachträgliche Feststellung eines abgelaufenen

*) Ist keine freiwillige Stuhlentleerung zu erhalten, so gelingt es in der Regel, sie durch Einführung von Glyzerin zu bewirken.

Digitized by Google

choleraverdächtigen Falles, so kann diese durch Untersuchung einer Blutprobe vermittels des Pfeifferschen Versuchs und der Agglutinationsprobe geschehen. Man entnimmt mindestens 3 ccm Blut durch Venenpunktion am Vorderarm oder mittels keimfreien Schröpfkopfes und sendet es in einem keimfreien zugeschmolzenen Reagenzglas ein. Scheidet sich das Serum rasch ab, so kann zur besseren Haltbarmachung Phenol im Verhältnisse von 1 : 200 hinzugesetzt werden: z. B. 0,1 ccm einer 5proz. Lösung von Karbolsäure auf 0,9 ccm Serum.

b) Von der Leiche.

Die Oeffnung der Leiche ist so bald als möglich nach dem Tode auszuführen und in der Regel auf die Eröffnung der Bauchhöhle und Herausnahme von 3 Dünndarmschlingen zu beschränken. Zu entnehmen und einzusenden sind 3 doppelt unterbundene 15 cm lange Stücke, und zwar aus dem mittleren Teile des Ileum, etwa 2 m oberhalb sowie unmittelbar oberhalb der Ileocöcalklappe. Besonders wertvoll ist das letztbezeichnete Stück, welches daher bei der Sendung niemals fehlen sollte.

B. Auswahl und Behandlung der zur Aufnahme des Materials bestimmten Gefäße.

An geeignetsten sind starkwandige Pulvergläser mit eingeschliffenem Glasstöpsel und weitem Halse, in ihrer Ermanglung Gläser mit glattem zylindrischen Halse, welche mit gut passenden, frisch ausgekochten Korken zu verschließen sind.

Die Gläser müssen vor dem Gebrauche frisch ausgekocht, dürfen dagegen nicht mit einer Desinfektionsflüssigkeit ausgespült werden.

Nach der Aufnahme des Materials sind die Gläser sicher zu verschließen, der Stöpsel ist mit Pergamentpapier zu überbinden; auch ist an jedem Glase ein Zettel fest aufzukleben oder sicher anzubinden, der genaue Angaben über den Inhalt unter Bezeichnung der Person, von welcher er stammt, und über die Zeit der Entnahme (Tag und Stunde) enthält.

C. Verpackung und Versendung.

In eine Sendung dürfen immer nur Untersuchungsmaterialien von einem Kranken oder einer Leiche gepackt werden. Ein Schein ist beizulegen, auf dem anzugeben sind: die einzelnen Bestandteile der Sendung, Name, Alter, Geschlecht des Kranken oder Gestorbenen, Ort der Erkrankung, Heimats- oder Herkunftsort bei den von auswärts zugereisten Personen, Krankheitsform, Tag und Stunde der Erkrankung und zutreffendenfalls des Todes. Zum Verpacken dürfen nur feste Kisten — keine Zigarrenkisten, Pappschachteln u. dergl. — benutzt werden. Deckgläschen werden in Fließpapier eingeschlagen und mit Watte in einem leeren Deckglasschächtelchen fest verpackt. Die Gläser und Schächtelchen sind in den Kisten mittels Holzwolle, Heu, Stroh, Watte u. dergl. so zu verpacken, daß sie unbeweglich liegen und nicht aneinander stoßen.

Digitized by Google

Die Sendung muß mit starkem Bindfaden umschnürt, versiegelt und mit der deutlich geschriebenen Adresse der Untersuchungsstelle sowie mit dem Vermerke „Vorsicht“ versehen werden.

Bei Beförderung durch die Post ist die Sendung als „dringendes Paket“ aufzugeben und der Untersuchungsstelle, an welche sie gerichtet ist, telegraphisch anzukündigen.

Bei der Entnahme, Verpackung und Versendung des Materials ist jeder unnütze Zeitverlust zu vermeiden, da sonst das Ergebnis der Untersuchung in Frage gestellt wird.

D. Versendung lebender Kulturen der Choleraerreger.

Die Versendung von lebenden Kulturen der Choleraerreger erfolgt in zugeschmolzenen Glasröhren, die, umgeben von einer weichen Hülle (Filtrierpapier und Watte oder Holzwolle), in einem durch übergreifenden Deckel gut verschlossenen Blechgefäße stehen; das letztere ist seinerseits noch in einer Kiste mit Holzwolle, Heu, Stroh oder Watte zu verpacken. Es empfiehlt sich, nur frisch angelegte Agarkulturen zu versenden.

Im übrigen sind die im Abschnitte C für die Verpackung und Versendung gegebenen Vorschriften zu befolgen.

Anleitung für die bakteriologische Feststellung der Cholera.

I. Untersuchungsverfahren.

1. Mikroskopische Untersuchung
   a) von Ausstrichpräparaten (wenn möglich von Schleimflocken). Färbung mit verdünnter Karbolfuchsinlösung (1 : 9);
   b) eines hängenden Tropfens, anzulegen mit Peptonlösung, sofort und nach halbstündigem Verweilen im Brutschrank, bei 37° frisch und im gefärbten Präparate zu untersuchen.
2. Gelatineplatten.
   Menge der Aussaat 1 Oese (womöglich eine Schleimflocke), zu den Verdünnungen je 3 Oesen. Zwei Serien zu je 3 Platten anzulegen, nach 18stündigem Verweilen im Brutschranke bei 22° bei schwacher Vergrößerung zu untersuchen, Klatsch- eventuell Ausstrichpräparate und Reinkulturen herstellen.
   (Wegen Zubereitung der Gelatine s. Anhang Nr. 1.)
3. Agarplatten*).
   Menge der Aussaat 1 Oese, mit welcher die Oberflächen von 3 Platten nacheinander bestrichen werden. Zur größeren Sicherheit ist diese Aussaat doppelt anzulegen. Es kann auch statt dessen so verfahren werden, daß 1 Oese des Aussaatmaterials in 5 ccm Fleischbrühe verteilt und hiervon je 1 Oese auf je

*) Die Agarplatten müssen, ehe sie geimpft werden, eine halbe Stunde bei 37° im Brutschranke mit der Fläche nach unten offen gehalten werden.

Digitized by Google

1 Platte übertragen wird; in diesem Falle genügen 3 Platten. Nach 12- bis 18stündigem Verweilen im Brutschranke bei 37° zu untersuchen wie bei 2.

(Wegen Zubereitung des Agar s. Anhang Nr. 2.)

4. Anreicherung mit Peptonlösung

a) in Röhrchen mit je 10 ccm Inhalt. Menge der Aussaat 1 Oese, Zahl der Röhrchen 6; nach 6- und 12stündigem, sowie nach 18- bezw. 24stündigem Verweilen im Brutschranke bei 37° mikroskopisch zu untersuchen; bei Entnahme der Probe darf das Röhrchen nicht geschüttelt werden; von einem Röhrchen, welches am meisten verdächtig ist, Cholerabakterien zu enthalten, werden für die weitere Untersuchung mit je einer von der Oberfläche der Flüssigkeit entnommenen Oese 3 Peptonröhrchen geimpft und je eine Serie Gelatine- und Agarplatten angelegt. Die Peptonröhrchen sind vor der Impfung im Brutschranke bei 37° vorzuwärmen;

b) im Kölbchen mit 50 ccm Peptonlösung. Menge der Aussaat 1 ccm Kot, Zahl der Kölbchen 1; nach 6- und 12stündigem, sowie nach 18- bezw. 24stündigem Verweilen im Brutschranke bei 37° zu untersuchen wie bei a.

(Wegen Zubereitung der Peptonlösung s. Anhang Nr. 3.)

5. Anlegen von Reinkulturen.

Dasselbe erfolgt in der bekannten Weise, am besten von der Agarplatte aus, durch Fischen und Anlegen von Gelatinestichkulturen und Kulturen auf schräg erstarrtem Agar.

6. Prüfung der Reinkulturen

a) durch Prüfung der Agglutinierbarkeit (s. Anhang Nr. 4);

b) durch den Pfeifferschen Versuch (s. Anhang Nr. 5).

II. Gang der Untersuchung.

1. Bei dem ersten Krankheitsfall an einem Orte.

Es sind sämtliche Verfahren anzuwenden und zwar in folgender Reihenfolge: 1. Impfung der Peptonröhrchen, 2. Herstellung der mikroskopischen Präparate, 3. Anfertigung von Gelatine- und Agarplatten, 4. Untersuchung der mikroskopischen Präparate, 5. Herstellung von Reinkulturen, 6. Prüfung derselben vermittels des Agglutinations- sowie des Pfeifferschen Versuchs.

2. Bei den weiteren Krankheitsfällen ist ebenso wie bei ersten Fällen zu verfahren, jedoch sind statt 6 nur 3 Peptonröhrchen, statt je 2 nur je 1 Serie der Gelatine- und Agarplatten, statt letzterer eventuell auch Röhrchen mit schräg erstarrtem Agar zu impfen. Prüfung der verdächtigen Kolonien vermittels des Agglutinationsversuchs.

3. Bei Ansteckungsverdächtigen und bei Genesenen.

Die mikroskopische Untersuchung fällt fort, falls nicht die Ausleerungen choleraartig sind. Statt der 6 Peptonröhrchen 1 Peptonkölbchen (s. I. 4 b). Von da aus Anlegen je einer Serie

Digitized by Google

Gelatine- und Agarplatten. Prüfung der verdächtigen Kolonien vermittels des Agglutinationsversuchs. Sonst wie bei 2.

4. Wasseruntersuchung.

Mindestens 1 l des zu untersuchenden Wassers wird mit 1 Kölbchen (100 ccm) der Pepton-Stammlösung versetzt und gründlich durchgeschüttelt, dann in Kölbchen zu je 100 ccm verteilt und nach 8- und 12stündigem Verweilen im Brutschranke bei 37° in der Weise untersucht, daß mit Tröpfchen, welche aus der obersten Schicht entnommen sind, mikroskopische Präparate und von demjenigen Kölbchen, an dessen Oberfläche nach Ausweis des mikroskopischen Präparats die meisten Vibrionen vorhanden sind, Peptonröhrchen, Gelatine- und Agarplatten angelegt und wie bei 1 weiter untersucht werden. Zur Prüfung der Reinkulturen Agglutinations- und Pfeifferscher Versuch.

III. Beurteilung des Befundes*).

Zu II. 1. (bei den ersten Krankheitsfällen).

Die Diagnose Cholera ist erst dann als sicher anzusehen, wenn sämtliche Untersuchungsverfahren ein positives Ergebnis haben; wichtig ist namentlich eine hohe Agglutinierbarkeit (s. Anhang 4b), und der positive Ausfall des Pfeifferschen Versuchs. Ergibt sich bei der mikroskopischen Untersuchung eine Reinkultur von Vibrionen in der charakteristischen Anordnung, und finden sich auf der Gelatineplatte Kolonien von typischem Aussehen, so kann die vorläufige Diagnose Cholera gestellt, vor Abgabe der endgültigen Diagnose muß aber das Ergebnis der ganzen Untersuchung abgewartet werden.

Zu II. 2. (bei den weiteren Krankheitsfällen).

Die Diagnose Cholera kann schon gestellt werden, wenn die mikroskopische Untersuchung, die Untersuchung der Kolonien in Gelatine und auf Agar und der Agglutinationsversuch im hängenden Tropfen positiv ausgefallen sind.

Gibt die Agglutinationsprobe im hängenden Tropfen nicht völlig einwandfreie Besultate, so ist die quantitative Bestimmung der Agglutinierbarkeit vorzunehmen, sobald eine Reinkultur von der verdächtigen Kolonie gewonnen worden ist.

Zu II. 3. (bei Ansteckungsverdächtigen und bei Genesenen).

Cholera ist bei Ansteckungsverdächtigen als nicht vorhanden anzusehen, wenn bei zwei, durch 1 Tag voneinander getrennten Untersuchungen des Stuhlganges keine Cholerabakterien gefunden worden sind.

Genesene sind als nicht mehr ansteckungsfähig anzusehen, wenn dieselbe Untersuchung an drei, durch je 1 Tag getrennten Tagen negativ ausgefallen ist.

*) In allen Fällen, in denen bei der Untersuchung der Verdacht entsteht, daß aus irgend einer Veranlassung, z. B. infolge von Zusatz eines Desinfektionsmittels, das Untersuchungsmaterial nicht einwandfrei ist, muß sofort telegraphisch neues Material eingefordert werden.

Digitized by Google

Zu II. 4. (Wasser).

Etwa im Wasser nachgewiesene Vibrionen sind nur dann als Cholerabakterien anzusprechen, wenn die Agglutinierbarkeit eine entsprechende Höhe hat und der Pfeiffersche Versuch positiv ausgefallen ist.

IV. Feststellung abgelaufener Cholerafälle.

Abgelaufene choleraverdächtige Krankheitsfälle lassen sich feststellen durch Untersuchung des Blutserums der Erkrankten. Aus dem vermittels Schröpfkopfs oder Venenpunktion am Vorderarme gewonnenen Blute stellt man mindestens 1 ccm Serum her und macht damit verschiedene abgestufte Verdünnungen mit 0,8 % Kochsalzlösung behufs Prüfung auf agglutinierende Eigenschaften gegenüber einer bekannten frischen Cholerakultur und behufs Anstellung des Pfeifferschen Versuchs (s. Anhang Nr. 5).

Anhang.

1. Bereitung der Gelatine.
   a) Herstellung von Fleischwasserpeptonbrühe: ½ kg in Stücken gekauftes und im Laboratorium zerkleinertes fettfreies Rindfleisch wird mit 1 l Wasser angesetzt, 24 Stunden lang in der Kälte oder 1 Stunde lang bei 37° digeriert und durch ein Seihtuch gepreßt. Von diesem Fleischwasser wird 1 l mit 10 g Peptonum siccum Witte und 5 g Kochsalz versetzt, ½ Stunde lang gekocht, mit Sodalösung alkalisch gemacht, ¾ Stunden lang gekocht und filtriert.
   b) Herstellung der Gelatine: Zu 1 l Fleischwasserpeptonbrühe werden 100 g Gelatine gesetzt, bei gelinder Wärme gelöst, alkalisch gemacht — die erforderliche Alkaleszenz wird erreicht, wenn nach Herstellung des Lackmusneutralpunkts auf 100 ccm Gelatine, 3 ccm einer 10proz. Lösung von kristallisiertem kohlensaurem Natrium zugesetzt werden —, ¾ Stunden lang in strömendem Dampfe erhitzt und filtriert.
2. Bereitung des Agars.
   a) Herstellung von Fleischwasserpeptonbrühe: Wie zu 1a.
   b) Herstellung des Agars: Zu 1 l Fleischwasserpeptonbrühe werden 30 g Agar hinzugesetzt, alkalisiert wie bei 1 b, entsprechend lange gekocht und filtriert*).

*) Zu IV. Anhang Ziffer 1 und 2 s. den Abschnitt über Alkalisierung der Nährböden S. 79 ff. dieses Lehrbuchs. Dazu sei hier noch bemerkt: Für die Bouillon (1 a) ist ein genaues Maß überhaupt nicht angegeben. Für die Gelatine (1 b) ist ein Alkalizusatz vorgeschrieben, der doppelt so groß ist als der in den „Grundsätzen für die Reinigung von Oberflächenwasser durch Sandfiltration“ (KGA. Veröff. 99. 108) verlangte; er ist so hoch, daß er gelegentlich den Phenolphthaleinpunkt erreichen oder überschreiten kann, so daß dann nur sekundäre, vielleicht auch tertiäre Phosphate vorhanden sind (s. S. 82 f.). Agar (2 b) genau nach dem Wortlaut von 1 b zu bereiten ist nicht möglich, weil der Lackmuspunkt bereits hergestellt, ja überschritten ist. Es ist übrigens nicht zweckmäßig, Agar in alkalischer Flüssigkeit zur Lösung bringen zu wollen (s. S. 77). Die Alkalisierung ist

Digitized by Google

3. Bereitung der Peptonlösung.

a) Herstellung der Stammlösung: In 1 l destilliertem sterilisiertem Wasser werden 100 g Peptonum siccum Witte, 100 g Kochsalz, 1 g Kaliumnitrat und 2 g kristallisiertes kohlensaures Natrium in der Wärme gelöst, die Lösung wird filtriert, in Kölbchen zu je 100 ccm abgefüllt und sterilisiert.

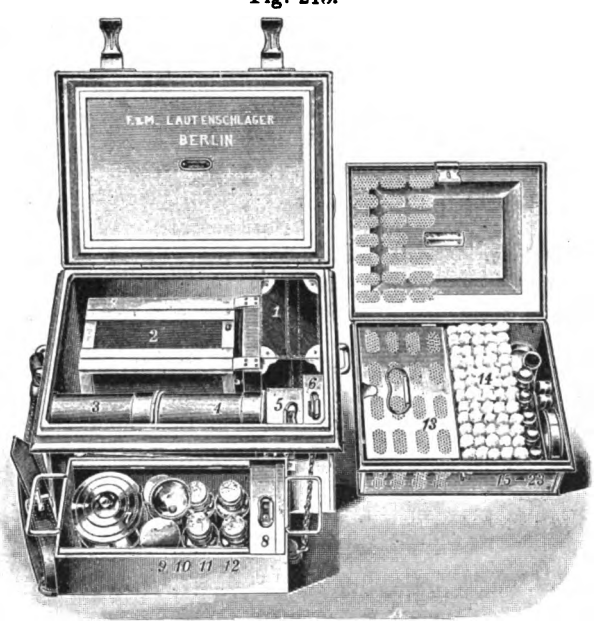
b) Herstellung der Peptonlösung: Von der vorstehenden Stammlösung wird eine Verdünnung von 1 + 9 Wasser hergestellt und zu je 10 ccm in Röhrchen und zu je 50 ccm in Kölbchen abgefüllt und sterilisiert.

4. Agglutinationsversuch s. S. 271 f. dieses Lehrbuchs.

5. Pfeifferscher Versuch s. S. 265 f. dieses Lehrbuchs.

Fliegende Laboratorien. Für die bakteriologische Feststellung der Cholera außerhalb eines Instituts ist nach den Angaben von R. Koch

Fig. 213.



und seinen Mitarbeitern von F. & M. Lautenschläger eine Laboratoriumseinrichtung mit den nötigsten Geräten in zwei Kästen zusammengestellt worden, deren Einrichtung in Fig. 213 abgebildet und im klin. Jahrbuch Bd. 11. 369 beschrieben ist.

---

hier unverhältnismäßig hoch, denn auch zum Agar sollen auf 1 l 30 ccm einer 10proz. Lösung von kristallisiertem kohlensaurem Natron gesetzt werden, das sind 20,8 ccm Normalsodalösung, eine Menge, mit der der Agar zumeist über den Phenolphthaleinpunkt alkalisch werden wird, umsomehr, je weniger sauer das verwendete Fleischwasser von Haus aus gewesen ist. Ueber die Unterschiede und Schwankungen im Säuregehalt von Fleischwässern s. S. 73. Ferner s. S. 89, Abs. 6.

Digitized by Google

Aehnliche fliegende Laboratorien gibt es für Expeditionen zur Untersuchung bei Pest, Typhus und anderen Infektionskrankheiten. Sie sind von derselben Firma hergestellt worden.

Andere Darmerkrankungen durch Bakterien.

Cholera nostras ist keine ätiologisch einheitliche Erkrankung. Als Erreger der Fleischvergiftung bekannte Bakterien vom Typus der Gärtnerschen hat H. Schottmüller (MmW. 04. 294) bei verschiedenen Fällen nachgewiesen.

Streptokokken. M. Beck ermittelte bei einem choleraverdächtigen Fall zur Cholerazeit des Jahres 1892 dicke und lange Streptokokken, die mikroskopisch im saueren Stuhl fast in Reinkultur und nach dem Tode im Blute und in den Organen vorhanden waren. Sie trübten die Bouillon in den ersten Tagen, wuchsen in Gelatine, besonders in der Tiefe, als ziemlich dicke, perlschnurartig aneinandergereihte Ketten und töteten Mäuse zu 0,3 ccm in die Bauchhöhle gespritzt innerhalb 24 Stunden (DmW. 92. 902).

Bei Sommerdiarrhöe der Säuglinge fand später W. D. Booker Streptokokken; eingehend ist diese Streptokokkenenteritis von Th. Escherich und seinen Schülern studiert worden; die im Stuhl gefundenen Kettenkokken bildeten selten Ketten von 20 bis 30 Gliedern, auch nicht in Bouillon, und waren nur in geringem Grade für Mäuse virulent; als vorteilhaft erwies sich die Vorkultur in Bouillon (Jahrb. f. Kinderhlkd. 99. 137).

Darmkatarrhe sind in ihrer Aetiologie durch die mikroskopische und kulturelle Untersuchung nicht immer zu erklären. Manchmal drängen sich gewisse Kleinwesen in den Vordergrund, wie Buttersäurebazillen oder Bac. pyocyaneus bei grüner Diarrhöe, oder es sind auffallend viele Hefezellen zu sehen oder Protozoen, so daß die Annahme einer ursächlichen Bedeutung nahegelegt ist.

Der Schweinerotlaufbazillus scheint gelegentlich beim Menschen hier in Betracht zu kommen; R. Lubinski fand ihn bei einem mit Ikterus und Darmkatarrh behafteten Kinde als vorwiegendes Kleinwesen in den Dejektionen. Die Infektionsquelle war damals nicht zu ermitteln (DmW. 01. 116). Gelegentlich kommt er auf Nahrungsmitteln vor. A. Peppler isolierte ihn aus einer wegen vermuteter Käsevergiftung eingesandten Probe von Weichkäsen; leider standen Dejektionen der Kranken nicht mehr zur Verfügung. Da sich aber in verschiedenen anderen, von A. Eckert (Diss., Erlangen 02) daraufhin untersuchten Proben die Bazillen nicht auffinden ließen, ist die Vermutung nicht ganz von der Hand zu weisen, daß die genannten Keime die Ursache der im Februar 1901 bei 20 Personen beobachteten Magendarmerscheinungen gewesen sind.

Bac. erysipelatos suum, von Pasteur und Tuillier zuerst gesehen, von Loeffler, Schütz u. a. genauer studiert (KGA. Arb. 1. 46), ist der Erreger des „Stäbchenrotlaufs der Schweine". Die feinen, schlanken Stäbchen (Taf. VI, Fig. 37) lassen sich am besten mit der Gramschen Färbung im Gewebe sichtbar machen; für einfache Färbung

Digitized by Google

nehme man Karbolfuchsin, da sie die Farbe etwas schwer aufnehmen. Sie bilden mitunter kürzere oder längere Scheinfäden. Die gläserbürstenartigen Stichkulturen mit ihrer leichten trichterförmigen Einziehung der Gelatine sind S. 209, Fig. 188 wiedergegeben. Das Wachstum auf Agar ist zart. Mäuse erliegen der Infektion gewöhnlich binnen 3 bis 4 Tagen, bekommen vorher verklebte Augen und sterben in hockender Stellung; Tauben gehen sicher ein; weniger empfänglich sind Kaninchen, gar nicht Meerschweinchen, Feldmäuse und Waldmäuse. Der von R. Koch aus Faulflüssigkeit erhaltene, 1878 beschriebene Mäuseseptikämiebazillus ist wahrscheinlich mit dem Schweinerotlaufbazillus gleich.

Tuberkulose des Darms läßt sich aus Untersuchungen der Entleerungen auf Tb. nicht mit Sicherheit diagnostizieren, weil die etwa gefundenen Tb. von verschlucktem Lungenauswurf herrühren können. Zur Erleichterung ihrer Auffindung hat J. Strasburger die Zentrifugierung aus einer Verdünnung der Fäces mit Alkohol angeraten (s. S. 351). Bei der Aufsuchung im mikroskopischen Präparat ist die Möglichkeit zu berücksichtigen, daß Smegmabazillen vorhanden sein können.

Milzbrand des Darms kommt primär beim Menschen selten vor; J. Karlinski beschrieb einen Fall, bei dem die Bazillen in Geschwüren des Magens und Darms gefunden wurden; der Verstorbene war an Typhus erkrankt gewesen und hatte eine größere Menge wahrscheinlich von einer milzbrandkranken Kuh stammender Milch getrunken (BkW. 88. 866); sekundär kann Anthrax im Gefolge der Infektion von der Haut oder der Lunge aus auftreten. Bei etwaigem Verdacht wäre namentlich auf blutige Partikelchen zu achten, diese wären nach Gram und mit rotstichigem Methylenblau zu färben, außerdem das Plattenverfahren und der Tierversuch heranzuziehen, obendrein noch mit Kot, der in wäßriger Aufschwemmung 20 Minuten auf 80° erwärmt wurde, da es wenigstens nicht unmöglich ist, daß Sporen darin enthalten sind.

Darmpest ist beim Menschen selten. Zum Nachweis von Pestbazillen in Fäces reicht das Plattenverfahren nicht hin, man muß Tiere impfen, und zwar mittels der Einreibung in die unverletzte, rasierte Haut von Meerschweinchen (s. S. 164), außerdem eine Reihe von Plattenkulturen im Eisschrank halten, wo die Begleitbakterien am Auskeimen mehr gehindert sind als die Pestbazillen.

Harn- und Geschlechtsorgane.

Der normale Harn aus gesunden Harnwegen ist keimfrei. Keime kommen von der äußeren Mündung, mitunter von der Harnröhre hinein, doch sind das, wenn die Umgebung der Harnröhrenmündung reingemacht worden ist, immer nur vereinzelte. Ammoniakalische Gärung läßt in neuen, sauberen oder in sterilisierten Gläsern oft lange auf sich warten, sie erfolgt rasch in Gefäßen, die täglich zur Auffangung des Urins benutzt werden.

Digitized by Google

Harnstoffvergärende Keime sind die verschiedensten Bakterienarten. Am meisten genannt wird Bacterium ureae und Micrococcus ureae.

Bacterium ureae (W. O. v. Leube und E. Graser) hat später unter anderen A. Peppler aus freiwillig zersetztem Harn gezüchtet und genauer beschrieben (Diss., Erlangen 00. 27). Das unbewegliche Kurzstäbchen bildet auf Gelatine Ansiedlungen, die bei schwacher Vergrößerung gelblich sind und nach dem seichtbuchtigen Rand zu farblos werden; die Zeichnung ist zart, jedoch erst nach mehreren Tagen deutlich blätterrippenartig. (Ainl JG —.)

Bakterientrüber Harn kann alle möglichen Keime enthalten. Anfänger können durch sie bei der mikroskopischen Untersuchung irregeführt werden, wenn sie Bakterienschwärme für Zylinder oder Hefen für rote Blutkörperchen ansehen; oder sie stehen ratlos vor dem rätselhaften Gebilde einer aus der Hefe vorsprossenden Tochterzelle. Ein derartig trüber Harn eignet sich nicht ohne weiteres zur Anstellung einer Eiweißprobe; er muß vorher durch ein bakterienzurückhaltendes Filter (s. S. 34 ff.) geklärt werden.

Fig. 214.

Gewinnung des Harns zur bakteriologischen Aussaat. Bei Leichen sticht man mit der Kanüle einer sterilisierten Spritze in die freigelegte Blase und saugt etwas an. Beim bettlägerigen Kranken muß man katheterisieren. Sonst kann man ohne Sorge um Störungen den Harn, wenn auch nicht den zuallererst ausfließenden, in ein steriles Gefäß entleeren lassen, selbst von Frauen; es kommen dabei höchstens einige Keime hinein, die durch ihre geringe Anzahl (auf der sofort angelegten Gelatineplatte) ohne weiteres die zufällige Verunreinigung erkennen lassen. Will man sicher gehen, dann lasse man die Harnröhrenmündung mit Watte und Wasser reinigen und trocknen; hierauf übergebe man der Person ein Doppelgefäß der Fig. 214 und weise sie an, den Harn zunächst ins Becherglas zu entleeren und während der Entleerung den Strahl in das innen stehende Becherglas zu dirigieren, danach wird der Deckel alsbald wieder aufgesetzt. Die Untersuchung muß selbstverständlich sofort vorgenommen werden. Man sät $^1/_4$ bis 2 ccm aus, legt allenfalls aus dem ersten Röhrchen Verdünnungen an, dann erst wird mikroskopiert und die Reaktion geprüft, indem man mit einem Platindraht einen Tropfen auf Lackmuspapier überträgt. Zur Gewinnung der Schwebestoffe einschließlich der Bakterien bedient man sich entweder der Zentrifuge oder der Filtration durch Asbestfilter in der Weise, wie S. 36 oben und beim Tb.-Nachweis S. 399 beschrieben. Für eine etwaige Tierimpfung kann man den Filterrückstand gut gebrauchen. Vom Harn selbst kann 1 ccm und mehr eingespritzt werden. Mäuse vertragen 1 ccm Harn in der Bauchhöhle, Meerschweinchen und Kaninchen 10 ccm und mehr; damit wird aber bloß ein sehr geringer Bruchteil von der in einem Filterrückstand zu erhaltenden Bakterienmenge eingeführt.

Zur Katheterisierung müssen natürlich sterilisierte Katheter genommen werden. Sicherheitshalber wird man hier metallene wählen,

Digitized by Google

die in Büchsen bei 160° ½ Stunde trocken sterilisiert werden; im Notfalle kann man einen Katheter befeuchtet und in Watte eingehüllt im Dampf sterilisieren. Ueber die Sterilisation elastischer Katheter sei auf die Dissertation von P. Sittler (Jena, bei G. Fischer) verwiesen. Das zur Einfettung verwendete Olivenöl wird ebenfalls ½ Stunde bei 160° gehalten. Man taucht dann die Spitze des Katheters ein und sorgt durch entsprechende Neigung dafür, daß das Oel von selbst eine Strecke weit über die Oberfläche läuft. Der ausfließende Harn wird in einigen sterilisierten Kölbchen in verschiedenen Portionen aufgefangen.

Zur Prüfung gezüchteter Bakterien auf ihr Wachstum in Harn und auf ihr Vergärungsvermögen bedarf man keimfreien Urins, den man am sichersten mittels Filtration durch Asbest gewinnt. In der Hitze darf er nicht sterilisiert werden, wenn es darauf ankommt, daß der Harnstoff unzersetzt bleibt. Es sei bemerkt, daß Bakterien, die aus saurem Harn stammen, doch den Harn außerhalb der Blase alkalisch machen können (s. L. Heim, MmW. 92. 435). Für den Fall, daß die Bakterien in die Blase von Tieren eingeführt werden sollen, sei erwähnt, daß Pflanzenfresser alkalischen Harn haben, so daß die Reaktionsprüfung keinen Aufschluß über die harnstoffzersetzende Wirkung der Bakterien geben kann; in solchen Fällen müssen Fleischfresser (Hunde) genommen werden (s. auch S. 169).

Bakteriurie ist nach der Definition von A. Krogius eine Affektion, die durch die Anwesenheit einer großen Bakterienmenge im frisch gelassenen Urin bei gleichzeitigem Fehlen ausgeprägter eitriger Entzündungserscheinungen der Harnwege charakterisiert ist. In vielen Fällen wird die Grenze schwer zu ziehen sein, wann eitrige Entzündungserscheinungen ausgeprägt sind oder nicht, denn Eiterzellen kann man auch in fieberlosen Fällen finden. Andere, namentlich Kliniker, wollen nur solche Fälle darunter verstehen, bei denen die mit dem Harn ausgeschiedenen Bakterien aus den Nieren stammen, während sie die Fälle, wo die Bakterien scheinbar nur aus der Blase kommen, Cystitis nennen. Im bakteriologischen Sinne muß alles das Bakteriurie sein, wobei Bakterien mit dem Harn ausgeschieden werden; durch ein Beiwort läßt sich der einzelne Fall leicht kennzeichnen, z. B. Bakteriurie mit geringen oder ausgeprägten cystitischen Erscheinungen, Typhusbakteriurie u. s. w. Bakteriurie ist keine Krankheit, sondern ein Symptom.

Cystitis ist eine Erkrankung der Blase, bei der immer Bakteriurie vorhanden ist, gleichviel ob der Harn sauer oder alkalisch reagiert. Wird er ganz zersetzt ausgeschieden, dann sind gewöhnlich verschiedene Arten von Bakterien vorhanden, weil offene Pforten bestanden, durch die die Einwanderung erfolgen konnte. Wenn dies nur vorübergehend der Fall war, wie z. B. bei oder nach einer Operation an oder in der Umgebung der Blase, und wenn sich die Pforten bald wieder schließen, wird der zersetzt gewesene Harn wieder sauer; trotzdem können, wenn eine zweckmäßige Behandlung unterbleibt, für längere Zeit oder für immer Bakterien, eine Art oder mehrere, zurückbleiben. In anderen Fällen wiederum läßt sich ein äußerer Anlaß für das Hineingelangen von Keimen in die Blase nicht ermitteln.

Digitized by Google

Die Bakterien, die man findet, sind ganz unterschiedlich, und man wird, wenn man nur einige Fälle untersucht, bald welchen begegnen, die noch nicht beschrieben sind. Am meisten wurden, speziell bei Kindern und namentlich bei Mädchen, Kolibakterien gefunden. Indessen sei man mit der Diagnose Bact. coli und Staph. pyogenes albus nicht zu freigebig, sondern studiere die gefundene koliähnliche Art genauer auf ihre Eigenschaften, und hinsichtlich des anderen bedenke man, daß es zwar, insbesondere auf der Haut, vielfach Staphylococcus albus, aber recht selten, beim Menschen vielleicht überhaupt nicht Staphylococcus pyogenes albus gibt (s. S. 338).

Bei Nephritis kann eine Bakteriurie vorhanden sein, wenn die Nierenentzündung als sekundäre Erscheinung nach einer Infektionskrankheit mit bekanntem Erreger aufgetreten ist. Bei der akuten und chronischen Nephritis, der Brightschen Krankheit, ist bakteriologisch noch nichts Sicheres ermittelt worden; zwar hat man schon wiederholt Streptokokken gefunden, aber regelmäßig kommen sie ebensowenig vor wie bei Gelenkrheumatismus. In 2 Fällen von frischer akuter Nephritis habe ich keine Bakterien im Harn finden können.

Bakteriurie im engeren Sinne liegt vor, wenn bei akuten Infektionskrankheiten oder im Anschluß an sie in der Rekonvaleszenz und allenfalls noch längere Zeit danach die spezifischen Erreger ausgeschieden werden, wie es bei Typhus, Paratyphus, fieberhaftem Ikterus, bei Wundinfektionskrankheiten, bei Streptokokkenerkrankung als Begleitung von Scharlach u. s. w. beobachtet worden ist.

Bei Typhus abdominalis erscheinen die Bazillen in etwa 35 % der Fälle im Urin, oft in ungeheuren Mengen, und werden wochen-, monate- und jahrelang ausgeschieden, so daß die Träger stets eine Gefahr für die Umgebung und die Allgemeinheit sind. Sie stammen in solchen Fällen aus kleinen, unter der Nierenkapsel gelegenen thrombotischen Herdchen und vermehren sich zu großen Massen erst im Blaseninhalt. Gegen diese Vermehrung wird Urotropin oder Helmitol empfohlen; gegen die noch in der Niere befindlichen Keime wirken die Mittel nicht; aber die prophylaktische Darreichung von täglich 2 g soll die Bakteriurie verhindern (E. Fuchs, r. MmW. 03. 1228). Der Nachweis geschieht in der S. 417 genannten Weise.

Beim fieberhaften Ikterus oder der Weilschen Krankheit scheint die Plattenaussaat aus dem Harn gute diagnostische Anhaltspunkte zu geben, wie H. Jaeger hervorhob, der den Erreger entdeckt hat (ZfH. 12. 525).

Der **Bacillus proteus fluorescens** wurde von H. Jaeger unter sechs bei vier mit Heilung endigenden Fällen im Harn angetroffen. Er fand sich in den verschiedenen Organen, aber nicht im Blute. Agglutinationswirkung des Serums ist bis jetzt noch nicht studiert; über Mitagglutination von Tyb. s. S. 269. Er tritt bald als kurzes, bald als langes, dickes oder dünnes, bewegliches, geißeltragendes Stäbchen auf und ist im Körper von einer Kapsel umgeben. Die Ansiedlungen auf Gelatineplatten erinnern in ihrer Zeichnung teils an die der Tyb., teils der Milzbrandbazillen, teils kommen charakteristische Proteusfiguren mit unregelmäßigen, schnörkelartigen oder spiralig gewundenen

Digitized by Google

Fortsätzen zur Beobachtung, die bisweilen ausschwärmen, sich abschnüren und Inseln bilden. Ein Klatschpräparat aus einem halb verflüssigten, halb nicht verflüssigten Gelatinebezirk zeigt Fig. 38 der Tafel VI.

H. Conradi und H. Vogt teilten (ZfH. 37. 283) den bakteriologischen Befund bei einem erkrankten Schlächter mit; sie fanden zwar Unterschiede im Verflüssigungsvermögen der Kulturen, sahen es aber niemals gänzlich fehlen, wie es bei den Jaegerschen teilweise der Fall war. Sie erhielten die ihrigen nicht bloß aus dem Harn, sondern auch aus den Fäces, lassen aber die Gleichheit mit den aus dem Urin isolierten dahingestellt, da die Farbstoffbildung fehlte. Dem Bac. proteus fluorescens kommt, wie der Name sagt, die Bildung eines fluoreszierenden Farbstoffs auf Gelatine, Agar und Bouillon zu; auf Kartoffeln bildet er einen gelblichen bis dunkelbraunen, schließlich schmutzig rotbraunen Belag mit bleigrauer oder blaugrauer Verfärbung des Substrats, die aber nicht bei allen Kartoffeln auftritt. Die Temperaturbreite liegt zwischen 16 und 44°, es findet aber selbst bei 0° noch langsames Wachstum mit lebhafter blaugrüner Fluoreszenz statt.

Indol wird nicht gebildet und in zuckerhaltiger Bouillon kein Gas. Milch gerinnt, auch bei Zusatz von keimfreiem Kulturfiltrat. Die Keime werden durch 2 Minuten lange Erwärmung auf 60° abgetötet; aber das Labferment, das sie bilden, bleibt erhalten, selbst wenn man 10 bis 30 Minuten auf 100° erhitzt (s. S. 233).

Geeignete Versuchstiere sind Hühner, Tauben und Mäuse, auch Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten; Mäuse erliegen der subkutanen Einspritzung von 0,5 ccm oder der intraperitonealen von 0,1 ccm in weniger als 24 Stunden. Die Mäuse bekommen mit gelbem Sekret fest verklebte Augen und sterben in hockender Stellung. Kaninchen erlagen, wenn ihnen intravenös, Meerschweinchen und Ratten, wenn ihnen intraperitoneal 4 oder 3 ccm einer 20stündigen Bouillonkultur gegeben wurden. Nach Einführung von 2 bis 3 ccm in den Darm gingen Kaninchen in 1 bis 2 Tagen mit zahlreichen Bazillen in den inneren Organen ein. Wirksamer erwiesen sich die bakterienreichen Bauchhöhlenexsudate eingegangener Tiere; nächst der Bauchhöhle war der Darminhalt am bazillenreichsten, demnächst in absteigender Folge Nieren, Leber, Milz, Urin; Herzblut und Lungen enthielten nur spärliche Keime.

Bei den von H. Jaeger untersuchten Erkrankungen der Menschen hatten Hühner den Ausgangspunkt gebildet. Aus Italien eingeführtes krepiertes Geflügel war von Einwohnern des an der Blau, einem Nebenflüßchen der Donau, gelegenen Dorfes Söflingen bei Ulm angekauft und zum Düngen verwendet worden. Darauf stellte sich eine Geflügelseuche in den Gehöften ein, und auch einige Bewohner des Dorfes erkrankten an fieberhaftem Ikterus. Feste Abgänge, Kot, Stallstreu, Futterreste, krepiertes Geflügel, all das wurde der Blau überantwortet und von ihr der Donau zugeführt. Unterhalb der Einmündung befand sich die württembergische Militärschwimmschule, oberhalb lagen die übrigen Badeanstalten, unter ihnen die des bayrischen Militärs. Bei diesem kamen keine Fälle von Weilscher Krankheit zur Beobachtung, wohl aber bei den württembergischen Soldaten, die in ihrer Anstalt gebadet hatten.

Tuberkulose der Harnorgane kann durch den Nachweis von Tb. diagnostiziert werden, indessen muß man wegen der leicht in den Urin gelangenden Smegmabazillen besondere Vorsicht walten lassen.

Digitized by Google

Es sind hier tatsächlich verhängnisvolle Irrtümer vorgekommen, zumal wenn die Gabbetsche Färbung (s. S. 394) in Anwendung gezogen wurde. Es darf nur solcher Harn zur Untersuchung genommen werden, der mittels Katheter gewonnen oder bei Männern unter Aufsicht in ein sterilisiertes Gefäß (s. S. 444) entleert wurde, nachdem die Harnröhrenmündung kurz zuvor gut gereinigt worden ist.

Der zu untersuchende Harn wird entweder mit gleichen Teilen Alkohol versetzt und zentrifugiert, oder man filtriert eine größere Menge durch ein steriles Asbestfilter; der Rückstand ist bei Abwesenheit anderer Keime zur Kultur auf Glyzerinkartoffeln oder Blutserum, jedenfalls aber zum Tierversuch und zur Färbung zu gebrauchen. Fürchtet man, daß die ausgeschleuderten Teile oder der Filterrückstand schlecht am Glase haften und bei der Wasserspülung fortgeschwemmt werden könnten, dann streiche man das Präparat mit einer Spur frischen Hühnereiweißes aus.

Um Eiweiß stets unverdorben bei der Hand zu haben, vermischt man es mit gleichen Teilen kalt gesättigter Borsäurelösung, die an 4% Borsäure gelöst enthält. Die Mischung geht klar und ohne Schwierigkeit durchs Filter und hält sich unbegrenzt. Mitunter scheidet sich nach einiger Zeit ein geringer Bodensatz von ausgefällter Eiweißsubstanz ab, die durch erneute Filtration leicht zu beseitigen ist (v. Sehlen, C. 4. 686).

Geschlechtskrankheiten.

Gonorrhöe.

Der **Micrococcus gonorrhoeae** ist von A. Neißer 1879 im Trippersekret nachgewiesen und von E. Bumm auf erstarrtem menschlichem Blutserum (gewonnen aus Plazenten, DmW. 85. 910) gezüchtet worden.

Die Diplokokken sind nicht vollkommen rund, sondern zwei halbkugelförmige Gebilde, durch eine plasmatische, den Farbstoff schwerer aufnehmbare Brücke verbunden und semmelförmig oder kaffeebohnenartig aneinander gelagert. Bezeichnend ist ihre Gruppierung zu Haufen, die zumeist in Leukozyten liegen; von diesen ist oft nicht mehr als eine Andeutung zu sehen (Taf. III, Fig. 17), manchmal hat einer, wie es scheint, die Zellgrenze durchbrochen und sich zwischen die anderen Leukozyten hinein ergossen; endlich begegnet man gänzlich freiliegenden oder an andere Zellen, Epithelzellen, angelagerten Haufen. Auch dann lassen sich die Gonokokken noch durch die typische Anordnung der Gruppe und durch die Gestalt der einzelnen Diplokokken erkennen. Aus einzelnen, allein im Präparat gefundenen Diplokokken kann man die Diagnose nicht mit Sicherheit stellen.

Zur Färbung der Gonokokken in lebenden Leukozyten eignet sich das Neutralrot (Uhma, Arch. f. Derm. u. Syph. 50. 241). J. Plato vermischte etwas Gonorrhöeeiter mit einer Oese verdünnter Neutralrotlösung (1 ccm kaltgesättigter wäßriger Lösung in 100 ccm physiol. Kochsalzlösung); danach zeigt sich ein Teil der intrazellulär gelegenen Gonokokken tiefrot gefärbt, und zwar sind die Gonokokken fast die ersten körperlichen Dinge, die die Farbe annehmen, ein Teil bleibt ungefärbt, darunter alle extrazellulär gelagerten Gonokokken, wenn

Digitized by Google

im hängenden Tropfen oder im nicht fixierten Präparat untersucht wird. Im fixierten Ausstrich und bei Anwendung einer stärkeren Lösung (20 ccm wäßriger Neutralrotlösung auf 100 ccm Wasser) werden alle Gonokokken tiefrot gefärbt (BkW. 99. 1085).

Gewöhnlich färbt man mit einem der gebräuchlichen Anilinfarbstoffe; Methylenblau läßt die Diplokokken kleiner erscheinen als Fuchsin oder Gentianaviolett. Sehr zu empfehlen ist die Anwendung ganz verdünnter Lösungen, z. B. 2 Tropfen 2proz. wäßriger Gentianaviolettlösung auf 10 ccm dest. Wassers (s. S. 43), die, zwischen Objektträger und Deckglas gebracht, ein wenig über Handwärme erwärmt wird; man kann dann die Anfärbung unterm Mikroskop verfolgen. Für frische Fälle, namentlich von männlicher Gonorrhöe, genügt diese einfache Färbung. Die mit Gonokokken besetzten Leukozyten sind gegenüber den unbesetzten bedeutend in der Minderzahl.

Zur Differenzierung der Gonokokken von Zellplasma und Zellkernen sind verschiedene Verfahren eingeschlagen worden. Man hat entweder zwei basische Anilinfarben genommen, z. B. in dem Gemisch von L. Pick und J. Jacobsohn (BkW. 96. 811), oder in der Modifikation von C. Fraenkel (ZfH. 31. 224):

	Pick-Jacobsohn	C. Fraenkel
Dest. Wasser	20 ccm	20 ccm
Karbolfuchsin	15 Tropfen	45 bis 50 Tropfen
Konz. alkohol. Methylenblaulösung .	8 Tropfen	8 Tropfen
Färbungsdauer	höchstens 8 bis 10 Sekunden	5 Minuten.

Oder eine basische und eine saure Farbe nach A. Neißer:

Färbung in gesättigtem alkohol. Eosin unter Erwärmen,
Absaugen des Eosins mit Fließpapier,
Gesättigte alkohol. Methylenblaulösung ¼ Minute. Wasserspülung.

Oder nach Klein-Finger:

Fixierung in Alkoholäther 40 Minuten,
Färbung in einem Gemisch von 0,5 Eosin in 100 ccm konz. wässeriger Methylenblaulösung. Wasserspülung.

Das Gramsche Verfahren ist zur Differenzierung der Gonokokken sowohl gegenüber Zellplasma und Kernen, als auch anderen gleichzeitig im Sekret vorhandenen Bakterien vielfach angewendet worden. Da die Gonokokken die Jodgentianaverbindung bei Alkoholbehandlung abgeben, während die meisten Kokken gefärbt bleiben, erscheinen die Gonokokken in der Gegenfarbe. Als solche wurde von Galewski Vesuvin, von Steinschneider Fuchsin und von K. Touton Safranin in sehr verdünnter Lösung behufs Vermeidung von Ueberfärbung empfohlen. (BkW. 94. 486). Die Bemerkungen von M. Weinrich zur Gramschen Färbung s. S. 50.

A. Pappenheim, der die verschiedenen angegebenen Verfahren (Monatshefte f. pr. Derm. 39. 361) eingehend kritisiert hat, verband die Gramsche Behandlung mit einer von ihm angegebenen Doppelfärbung mit zwei basischen Farbstoffen, von denen der eine eine Abneigung gegen die Bakterien und eine Vorliebe für die Zellen hat (Methylgrün), der andere bakterienfärbende Eigenschaften besitzt und zugleich gegen den ersten kontrastiert (Pyronin). Die Vorschrift für die Bereitung der auch für sich allein anwendbaren Methylgrünpyroninlösung ist:

Digitized by Google

Konz. Lösung von Methylgrün in 5proz. Phenollösung 2 Teile
„ „ „ Pyronin „ „ „ 1—3 „
Färbungsdauer 3 bis 5 Min. Kerne blaugrün bis lila; Kokken dunkelrot.

In der Kombination mit den Verfahren von Steinschneider-A. Neißer hat Pappenheim folgende „Universalgonokokkenfärbemethode" angegeben:

Karbolgentiana.
Jod-Jodkaliumlösung 3 Minuten.
Aceton-Alkohol nach Nicolle (Alkohol abs. + 1/3 Aceton)
nicht weniger als 1/2 und nicht mehr als 2 bis 3 Minuten.
Orange-G in verdünnter Lösung.
Absaugen mit Fließpapier.
Karbol-Methylgrün-Pyronin.
Wasserspülung. Trocknung. Balsam. Es erscheinen:
Gonokokken rot (Pyronin),
jodfeste Bakterien schwarzblau,
Zellkerne grünblau (Methylgrün),
oxyphiles Plasma der neutrophilen Leukozyten gelb (Orange),
eosinophile Granulationen gelb (Orange),
Leiber der Lymphozyten purpurrot (Pyronin),
Leiber der Epithelien rosa (Pyronin),
Mastzellenkörner rotviolett (Metachromasie von Gentianaviolett),
oder gelegentlich scharlachrot (Metachromasie von Pyronin).

Für Bakterien, die sich gramnegativ verhalten, sind verschiedene Beizungsverfahren angegeben worden (s. S. 52 f). Allein es gelingt nach A. Pappenheim nicht, mit diesen, z. B. mit Pikrinsäure, Farbstoffe auf dem Gonokokkus säureecht zu fixieren. Jedoch will R. v. Leszczynski die oberflächlich gelagerten intrazellulären Gonokokken zwar etwas kleiner, aber durch Schwarzfärbung scharf kontrastiert vom gelben Protoplasma der Leukozyten und Epithelien auf folgende Weise dargestellt haben (Arch. f. Derm. u. Syph. 04. 409):

Möglichst dünne Ausstriche in der Flamme fixieren.
Konz. Lösung von Thionin in 2proz. Phenollösung 60 Sekunden.
Wasserspülung.
Gesättigte Pikrinsäurelösung mit gleichen Teilen Kalilauge 1:1000 60 Sekunden.
Ohne Wasserspülung in absoluten Alkohol, der nach 5 Sekunden rasch mit dem Gummiballon weggeblasen wird.
Trocknen. Balsam. Extrazelluläre und tief gelegene intrazelluläre Gonokokken sind zu wenig charakteristisch.

Die Züchtung gelingt mit Sicherheit nur bei Verwendung von menschlichem Blutserum, das am besten nicht zum Gerinnen gebracht ist. Man stellt damit feste Nährböden nach E. Wertheim her, indem man 2 bis 3 Teile gewöhnlichen Nähragars mit 1 Teil menschlichem Blutserum in Schälchen vermischt. Wertheim verteilte das Trippersekret sorgfältig in 4 ccm sterilen, flüssigen menschlichen Blutserums und legte davon die üblichen Verdünnungen in zwei anderen Röhrchen mit demselben Blutserum an. Da Temperaturen unter Körperwärme und über 40° den Gonokokken bald schädlich werden, stellte er die drei Röhrchen ins Wasserbad von etwa 38° und vermischte dann den Inhalt eines jeden mit etwa der gleichen Menge verflüssigten 2proz. Nähragars, der zuvor in demselben Wasserbade auf 40° abgekühlt worden war, mischte gut und goß in Schälchen, die dann in den auf 36° erwärmten Brütschrank gestellt wurden.

Für Ausstrichaussaaten gibt man 1 bis 3 ccm menschlichen Blut-

Digitized by Google

serums in ein Kulturschälchen und gießt 7 bis 10 ccm Nähragar darüber; man braucht dabei mit der Temperatur nicht so vorsichtig zu sein. Es eignet sich auch jahrelang mit Chloroformzusatz aufbewahrtes menschl. Blutserum, das wenige Chloroform geht durch den warmen Agar, wenn man die gegossenen Schälchen etwas stehen läßt, weg.

Steinschneider hat schon vor Wertheim seröse Flüssigkeit (aus Hydrocele) vom Menschen mit Agar vermischt zur Kultur der Gonokokken benutzt; mit der 10. Generation der erhaltenen gramnegativen Kokken gelang es ihm nicht, durch Ueberimpfung in die Harnröhre eines Mannes eine ausgesprochene Gonorrhöe zu erzeugen (BkW. 90. 533). Später hat K. Menge den Inhalt eines Ovarialkystoms mit Erfolg zur Kultur verwendet (r. C. 14. 675), Kiefer Hydrothorax- oder Ascitesflüssigkeit, insbesondere solche von Unterleibstumoren (BkW. 95. 332). Indessen gaben derartige seröse Flüssigkeiten durchaus nicht so gute Erfolge wie das menschliche Blutserum, und mit Recht rät W. Scholtz, man solle jede immer erst auf ihre Brauchbarkeit prüfen, ehe man sie im ganzen zu Gonokokkennährböden verarbeitet und zu diagnostischen und biologischen Zwecken verwendet (Hdb. d. path. Mikr. 8. 163).

Tierisches Blutserum steht an Brauchbarkeit jenen serösen Flüssigkeiten nach, so z. B. das Schweineblutserum, das A. Wassermann mit Zusatz von Glyzerin und Nutrose (s. S. 104) anwendete. O. Stross sah große Verschiedenheiten in der Brauchbarkeit des Serums von Tieren, ja er fand es in größerer Menge zum Nährboden (mit menschlichem Blutserum) gesetzt unter Umständen sogar wachstumshemmend.

Eidotter oder gekochte Milch ließen sich verwenden, haben aber den Nachteil der Undurchsichtigkeit. Krystallisiertes Hämoglobin erwies sich nicht geeignet, wohl aber waren die Gonokokken mit zentrifugierten und gewaschenen roten Blutkörperchen regelmäßig zum Wachstum zu bringen; die Zusatzmenge betrug 1 ccm zu 10 ccm Agar (C. 38. 491).

Gewöhnliche Nährböden gaben ganz unzuverlässige Erfolge; zwar haben Thalmann und später Th. Vannod (C. 40. 162) mit einfachem Fleischwasseragar, der mit $^2/_3$ der für die Erreichung des Phenolphthaleinpunktes nötigen Menge Natronlösung versetzt war, gutes Resultat verzeichnet, aber das konnte von den meisten Nachprüfern nicht bestätigt werden. A. Neißer und W. Scholtz halten den Fleischwasseragar zur Verwendung in diagnostischer Beziehung und zur Fortzüchtung von Gonokokkenkulturen für vollkommen unbrauchbar (Hdb. d. path. Mikr. 3. 165). S. Patellani Rosa will mit einfacher, sehr schwach alkalischer Nährbouillon aus Föten mit und ohne Agarzusatz Glück gehabt haben (C. 30. 177); wer sicher gehen will, wird immer Nährböden mit menschlichem Blutserum benutzen.

Die Ansiedelungen auf solchen sind nicht besonders charakteristisch; sie sind rundlich, werden binnen 3 Tagen kaum größer als 2 mm und sehen grau, in dickeren Lagen weiß, aber nicht gelb aus, bei schwacher Vergrößerung hellgelb bis rehbraun, in der Mitte grobkörnig, nach dem leicht gezähnelten Rand zu fein punktiert. In flüssigen Nährlösungen, die leicht getrübt werden, erfolgt hauptsächlich in den oberen Schichten Wachstum, es bildet sich eine zarte Haut, die später untersinkt. Die Kulturen müssen öfter überimpft werden, denn sie halten sich selten länger als 8 bis 10 Tage.

Digitized by Google

Die Widerstandsfähigkeit der Gonokokken gegen Trocknung ist sehr gering; an Seidenfäden lassen sie sich auch im Exsikkator nicht bewahren; an Wäsche sollen sie einige Stunden lebensfähig bleiben, bei Zimmerwärme nach 24 bis 36, bei 40 bis 41 ° schon in einigen Stunden eingehen. Unter 30 ° wachsen sie nicht. Ihr Temperaturoptimum ist 36 bis 37 °, bei 38,5 bis 39 ° hört das Wachstum in Kulturen auf.

Tiere verhalten sich refraktär, d. h. sie sterben nicht an der Impfung, doch gelang es E. Wertheim, entzündliche Erscheinungen im Peritoneum von weißen Mäusen und Meerschweinchen zu erzeugen (Arch. f. Gynäk. 42. 43). Dagegen konnte A. Wassermann (ZfH. 27. 298) mit Kulturen, die durch ¼ stündige Erhitzung auf 60 bis 70 ° abgetötet worden waren, den Tod von Kaninchen und Meerschweinchen durch Einspritzung von 10 ccm herbeiführen und durch subkutane Injektion von 0,1 ccm beim Menschen Entzündungserscheinungen und Temperatursteigerungen hervorrufen. Geringe Mengen dieser endotoxinhaltigen Flüssigkeit in die menschliche Harnröhre eingebracht, hatten einen mehrere Tage anhaltenden eitrigen Ausfluß zur Folge (J. de Christmas, AP. 11. 609); J. Schaeffer empfahl derartige Toxininjektionen zur provokatorischen Reizung (FdM. 15. 813).

Die bakteriologische Tripperdiagnose.

So einfach der Nachweis der Gonokokken beim frischen Tripper des Mannes ist, so mühevoll wird er, wenn es sich darum handelt, mit der mikroskopischen Untersuchung zu entscheiden, ob ein Tripper abgelaufen ist oder nicht. Um die Gonokokken aus ihren Verstecken in den Schleimhautfalten der Harnröhre hervorzuholen, hat man sogenannte provokatorische Maßnahmen versucht, Einspritzung von Silbernitratlötung, Wasserstoffsuperoxyd oder Gonokokkentoxin. Auch in den leukozytenreichen Tripperfäden sucht man oft vergeblich nach den Erregern; vielleicht eignet sich für diese der Kulturversuch mehr; in einem steril aufgefangenen Urin muß es m. E. möglich sein, durch Herausholung der Fäden mit einer sterilen Pipette ein für die Aussaat geeignetes Material zu bekommen.

Bei Frauen ist die mikroskopische Diagnose schon in frischen Fällen wesentlich langwieriger, umsomehr die Entscheidung, ob Heilung erfolgt ist. Die Kultur ist wegen der vielen Scheidenmikroorganismen*) gar nicht aussichtsvoll. In geschlossenen Herden innerhalb des Körpers, die auf operativem Wege eröffnet werden, wird man besseren Ausfall der Kultur erwarten können.

„Von außerordentlich großem Wert und unentbehrlich ist dagegen," so sagen A. Neißer und W. Scholtz (Hdb. 3. 173), „die Heranziehung der Kulturmethode in Fällen, in denen es sich darum handelt, festzustellen, daß bestimmte extragenitale Affektionen auf den Gono-

*) Bezüglich der Mikroorganismen der weiblichen Geschlechtsorgane sei verwiesen auf: K. Menge und B. Krönig, Bakteriologie des weiblichen Genitalkanals. Leipzig bei A. Georgi 1897. Teil I: Menge, Bakteriologie des Genitalkanals der nicht schwangern und nicht puerperalen Frau. Teil II: Krönig, Bakteriologie des Genitalkanals der schwangeren, kreißenden und puerperalen Frau.

Digitized by Google

kokkus zurückzuführen sind. So ist z. B. bei Augenaffektionen und ebenso bei Meningitis cerebrospinalis der Meningococcus intracellularis von dem Gonokokkus nur durch das Kulturverfahren mit Sicherheit zu unterscheiden. Aber auch bei Rektalaffektionen (Rektalgonorrhöe!) und bei Vulvovaginitis kleiner Mädchen ist die Diagnose Gonokokkus mikroskopisch bisweilen nicht mit vollster Sicherheit zu stellen. In manchen gerichtlichen Fällen dieser Art wird die Heranziehung des Kulturverfahrens daher geboten erscheinen."

Im gerichtlich-medizinischen Interesse hat zuerst J. Kratter auf den mikroskopischen Nachweis bei Vulvovaginitis kleiner Mädchen hingewiesen; er riet, man solle sich durch wiederholten Mißerfolg, der auch von späteren Untersuchern, z. B. von E. Harmsen (ZfH. 53. 89), als namentlich in den Anfangsstadien sehr häufig hervorgehoben wurde, von der Untersuchung nicht abschrecken lassen; in einem Falle waren erst nach Durchmusterung vieler im Laufe mehrerer Tage angefertigter Präparate und nach stundenlangem Suchen unzweifelhafte Tripperkokken zu finden (BkW. 90. 960). Kratter stellte ferner fest, daß die Gonokokken in den auf Wäsche angetrockneten Tripperflecken sehr lange Zeit färbbar blieben und nach mehr als ½ Jahr noch aufzufinden waren. Es werden nicht ganz oberflächlich gelegene Schüppchen abgeschabt und in Wasser quellen gelassen, oder eitergetränkte Fäden des Zeugs mazeriert und ausgepreßt und dann gefärbte Präparate gemacht (r. C. 16. 251; Haberda, DmW. 95. L. 32).

Pseudogonorrhoische Urethritis. In einigen Fällen hat M. Bockhart einzeln oder in Gruppen, meist frei, selten in Zellen gelegene kleine Kokken gefunden, mit denen beim Menschen Harnröhrenkatarrh erzeugt werden konnte (Jahrber. 86. 90.) K. Klieneberger berichtete von einer gonorrhöeähnlichen eitrigen Urethritis beim Manne, bei der niemals Gonokokken gefunden wurden; dagegen zeigten sich im gefärbten Ausstrich und in der auf hämoglobinhaltigen Nährböden angelegten Kultur massenhaft hämophile Bazillen mit allen Kennzeichen der Influenzabazillen; sie erinnerten an die von E. Friedberger (C. 33. 401) aus dem Präputialsekret von Hunden gezüchteten hämophilen Stäbchen, die auch Klieneberger darin fand (DmW. 05. 576). In einem ähnlichen Falle sind von M. Neißer neben Kapselbazillen hauptsächlich als Influenzabazillen angesprochene Stäbchen isoliert worden (P. Cohn, DmW. 05. 1152, wo weitere Literaturangaben). Diese Befunde mahnen dazu, bei jedem in Behandlung kommenden Urethralkatarrh mikroskopische Präparate zu fertigen, um festzustellen, ob tatsächlich Gonorrhöe oder eine tripperähnliche Urethritis vorliegt.

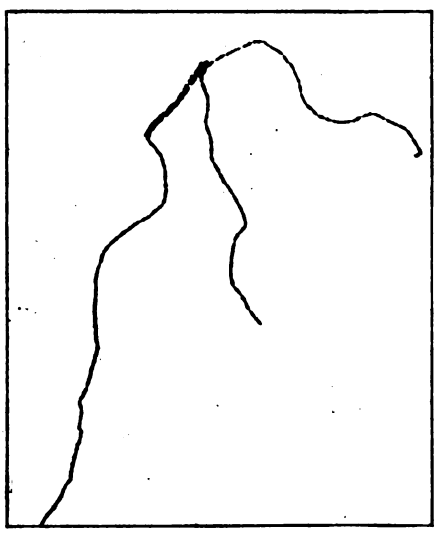
Ulcus molle.

Beim venerischen Geschwür hat A. Ducrey 1889 ein Stäbchen gefunden, dessen ursächliche Bedeutung zunächst von R. Krefting, dann von vielen anderen Autoren bestätigt und von P. G. Unna **Streptobacillus ulceris mollis** genannt wurde. Er findet sich in Gesellschaft von anderen im Schankereiter, am ehesten in den wandständigen Teilen, entweder in den Eiterzellen (Taf. XI, Fig. 67) oder in den intrazellularen Räumen und geht auf gewöhnlichen Nährböden

Digitized by Google

nicht, wohl aber auf bluthaltigen an. F. Besançon, V. Griffon und Le Sourd ermittelten eine Mischung von 2 Teilen verflüssigten, auf 50° abgekühlten Nähragars mit 1 Teil Blut vom Kaninchen, auch vom Menschen oder Hunde als am geeignetsten zur Züchtung. Man soll dazu den Eiter nicht ohne weiteres aus dem Geschwür nehmen, sondern es erst mit Jodtinktur pinseln und einen Verband mit Kollodium oder steriler Gaze darüber legen; nach 1 bis 2 Tagen sind die Bazillen in dem unter dem Häutchen befindlichen Eiter leichter rein zu erhalten. Besser ist es natürlich, wenn das Geschwür noch von der Oberhaut bedeckt ist, oder wenn man Eiter aus Bubonen haben kann. Indessen waren in solchen die Bazillen in mehreren Fällen nicht nachweisbar; auch hier soll man den an der Abszeßwand befindlichen Eiter besonders berücksichtigen.

Fig. 215.



Die Kolonien werden auf Blutagar binnen einigen Tagen 1 bis 2 mm groß, zeigen nur wenig Neigung zusammenzufließen und bestehen aus kurzen, unbeweglichen Stäbchen oder kurzen, oft parallel liegenden Ketten, die leicht färbbar sind, aber bei denen JG — ist. Im Kondenswasser des Blutagars finden sich lange Ketten (Fig. 215), im flüssigen Kaninchenblutserum **S**-förmig gekrümmte Ketten. Die Weiterzüchtung gelingt durch viele Generationen, wenn die Kulturen nicht zu alt geworden sind (nach M. v. Zeissl, r. C. 31. 169).

Die gewöhnlichen Versuchstiere sind unempfänglich. C. Nicolle hat beim Affen nach Uebertragung von Schankereiter auf die Stirn Geschwüre entstehen sehen (r. MmW. 00. 267). E. Tomasczewski sah die Impfung mit Reinkulturen bei einem Kronen- und einem Javaaffen angehen (DmW. 03. 466).

Von venerischen Geschwüren ist in Selbstversuchen auf den Menschen geimpft worden; dadurch wurde von Ducrey u. a., zuletzt von E. Tomasczewski auf der möglichst aseptisch gemachten Haut das Ausgangsmaterial für Reinkulturen gewonnen; nach einigen Generationen waren die Begleitbakterien verschwunden. Aus den Versuchen von Tomasczewski stammen die in Fig. 215 und auf Taf. XI., Fig. 67 und 68 stehenden Photogramme. Die Erzeugung von venerischen Geschwüren gelang mit Reinkulturen noch nach mehreren Generationen (ZfH. 42. 327).

Syphilis.

F. Schaudinn sah am 3. März 1905 Spirochäten im syphilitischen Geschwür und nannte eine von ihnen wegen ihrer blassen

Digitized by Google

Färbung (mit Giemsalösung) **Spirochaete pallida.** Sie wurde in der Folge von F. Schaudinn und E. Hoffmann und anderen Untersuchern auch im tiefer liegenden Gewebe und ohne Begleitmikroorganismen in den inneren Organen gefunden, so daß sie angesichts des so gut wie regelmäßigen Vorkommens in syphilitischen Produkten in Organen und im Blut bei frischer und sekundärer, sowie angeborener Syphilis und ihres Fehlens bei anderen Krankheiten mit der Lues in ursächlichen Zusammenhang gebracht werden muß.

Spirochäten aus einem Primäraffekt zeigen Taf. XI, Fig. 65 und 66. F. Schaudinn und E. Hoffmann haben in ihren ersten Berichten (KGA. Arb. 22. 527; DmW. 05. 711; BkW 05. 673) von der Spirochaete pallida die Spir. refringens unterschieden, die auch bei anderen ulzerösen Vorgängen, z. B. bei Karzinomen vorkommt. Möglicherweise sind unter diesem Namen verschiedene ähnlich aussehende gefaßt worden.

Nachweis der Spirochaete pallida: Bei offenen Sklerosen und Papeln werden die oberflächlichen Keime mittels eines Tupfers entfernt und dann ein Abstrich gemacht. Geschabepräparate bürgen einen sicheren Erfolg: Die obersten Schichten werden durch leises Kratzen mit einem scharfen Löffel entfernt, störende Blutbeimengungen durch Kompression und Tupfen vermieden und nur etwas Gewebebrei gewonnen, ohne daß man dabei besonders weit in die Tiefe zu gehen oder dem Kranken Schmerz zu bereiten oder Verletzungen zu machen braucht (BkW. 05. 673; DmW. 05. 1710). Die meisten Spirochäten fanden K. Herxheimer und Marie Opificius bei 2 Kranken in Präparaten, die Nachts zwischen 2 und 4 Uhr entnommen worden waren (MmW. 06. 310). Aus geschlossenen Herden, z. B. Lymphdrüsen, haben Schaudinn und Hoffmann etwas Saft durch Aspiration mit der Pravazschen Spritze geholt, indem sie die angestochene Drüse auf der Kanüle massierten, dann den herausgezogenen Saft in ein Schälchen spritzten und von den am wenigsten blutigen Teilen Präparate machten. Diese Untersuchung oder die von Stückchen exzidierter Drüsen wird von E. Hoffmann insbesondere zur Erkennung latenter Formen der Erkrankung empfohlen (DmW. 06. 869).

Von Blut haben C. T. Noeggerath und R. Staehelin mindestens 1 ccm aus dem Ohrläppchen oder einer Vene entnommen, in der 10fachen Menge $^1/_3$proz. Essigsäure aufgefangen, das gelöste Blut zentrifugiert und vom Bodensatz aus gestrichen. In den Roseolen fanden Veillon und Girard mittels der Färbemethode von C. Levaditi eine wahre Parasitenembolie in die Endkapillaren der Hautpapillen (r. DmW. 06. 288).

Die Untersuchung im hängenden Tropfen ermöglicht nach Schaudinn und Hoffmann die sicherste Unterscheidung der Spirochaete pallida von den übrigen; allein die Methode wird als schwierig und zeitraubend bezeichnet. Die Spir. pall. zeichnet sich durch ihr geringes Lichtbrechungsvermögen und durch enge, tiefe, regelmäßige, meist zahlreiche (10 bis 26) Windungen und dadurch vor den anderen aus, daß sie ihre Spiralform nicht bloß in der Ruhe, sondern auch bei Bewegungen behält, während die übrigen ihre spiralige Einrollung nur während der lebhaftesten Bewegung aufweisen, in der

Digitized by Google

Ruhe dagegen flach gewunden und mehr gerade aussehen sollen. Drei Formen der Bewegung wurden unterschieden: Rotation um die Längsachse, Vor- und Rückwärtsgleiten und Beugebewegungen des ganzen Körpers.

Fixierung und Färbung. Die Fixierung der Ausstriche, die sehr dünn sein müssen, geschieht gewöhnlich durch 15 bis 25 Minuten lange Einlegung in absoluten Alkohol. Osmiumsäuredämpfe wendete Schaudinn (DmW. 05. 1665) an, um nicht zu viel Kunstprodukte zu erzeugen und die Windungen der Spirochäten besser hervortreten zu lassen. Das Präparat soll man noch feucht einen Augenblick den Dämpfen aussetzen und dann trocknen lassen. Hierauf wird nach G. Giemsa (DmW. 05. 1026) also gefärbt:

Einlegen des fixierten Präparats in ein Blockschälchen mit der Schichtseite nach unten.

In ein weites graduiertes Reagenzglas gibt man dest. Wasser und setzt diesem auf je 1 ccm 1 bis 10 Tropfen einer 1promill. Kaliumkarbonatlösung und unter Umschütteln 1 bis 1½ Tropfen der Giemsalösung für die Romanowskyfärbung (s. S. 42) zu. Diese verdünnte Lösung wird ganz frisch bereitet, ohne jeden Verzug über das Präparat gegossen und mindestens 15 Minuten, am besten 1 Stunde wirken gelassen.

Abspülen mit scharfem Wasserstrahl. Abtupfen mit Filtrierpapier. Trocknen lassen. Balsam.

Diese Färbung wird wegen ihrer Sicherheit und namentlich aus dem Grunde anderen vorgezogen, weil sie die Spir. pall. in einem zarten roten Ton darstellt, während andere Spirochäten bläulich gefärbt werden. Die Färbung ist als nicht gelungen anzusehen, wenn die Kerne der Leukozyten blau sind; sie sollen tief schwarzrot sein.

Schnellfärbung erzielte F. R. M. Berger durch Kombination von Azur und azurhaltigen Farblösungen mit anderen gesättigten oder mäßig verdünnten Farblösungen. Von den verschiedenen Möglichkeiten ist folgende aufgeführt (MmW. 06. 1209):

Objektträgerpräparate, aufgestrichen wie Blut (Fig. 218, S. 461), für 5 bis 10 Minuten in absoluten Alkohol einlegen. Trocknen.

Vorbehandlung mit einigen Tropfen Azur II-Lösung (s. S. 42) 1 Minute.

Abspülen, trocknen, kurz durch die Flamme ziehen.

Wäßrig-alkoholische Dahlialösung (1 + 5 aq.) einige Tropfen 3 bis 5 Minuten wirken lassen.

Abspülen, trocknen, kurz durch die Flamme ziehen.

Auch mit gewöhnlicher Färbung hat man Erfolge gehabt, z. B. mit Karbolgentiana, heiß gesättigter 10proz. Gentianaviolettlösung, Kresylviolett R extra. Doch hat es für die Praxis keinen Zweck, von der Giemsalösung abzugehen. K. Reitmann beizte die Präparate vor der Färbung mit heißem Karbolfuchsin 5 Minuten in 2proz. wäßriger Phosphorwolframsäurelösung; nach der Beizung, sowie nach der Färbung wurde in Wasser, dann in 70proz. Alkohol und wieder in Wasser gespült (DmW. 05. 996).

Für Schnittpräparate wendet E. Hoffmann folgende Modifikation des Verfahrens von E. Bertarelli und G. Volpino (siehe S. 459), sowie von C. Levaditi an (DmW. 06. 869):

Fixierung in verdünntem Formalin (1 + 9 Wasser) 24 Stunden oder besser noch länger.

Uebertragung 1 bis 2 mm dicker Scheiben in 96proz. Alkohol über Nacht (etwa 15 Stunden).

Digitized by Google

In dest. Wasser (einmal wechseln) bis zum Sinken der Stücke; etwa 15 Minuten.

Die an feinen, weißen Zwirnfäden aufgehängten Stücke kommen in eine jedesmal frisch zu bereitende Mischung von 90 ccm 1,5proz. Silbernitratlösung und 10 ccm reinsten Pyridins und verbleiben darin 3 Stunden bei Zimmertemperatur und weitere 3 Stunden im Paraffinschrank bei 45 bis höchstens 50° (in dunkler Flasche mit Glasstopfen).

Uebertragung in die jedesmal unmittelbar vor dem Gebrauch anzufertigende Reduktionsmischung: 90 ccm einer 4proz. Pyrogallollösung werden mit 10 ccm reinen Acetons gemischt und zu 85 ccm dieser Mischung 15 ccm Pyridin hinzugefügt; hierin verbleiben die Stücke bei Zimmertemperatur über Nacht (in einer dunklen Flasche mit Glasstopfen).

Schnelle Einbettung in Paraffin.

Eine Nachfärbung mit polychromem Methylenblau ist möglich, aber nicht notwendig.

Alle Glasgefäße müssen äußerst sauber und alle Lösungen möglichst frisch sein.

Das Aussehen der Spir. pall. bietet im gefärbten Präparat gewisse charakteristische Merkmale, die sämtlich vorhanden sein müssen, wenn man die Diagnose auf sie stellen will. Die Pallida ist stets blaß gefärbt und nimmt, was bezeichnend ist, mit der Giemsafärbung einen zarten roten oder rotvioletten Ton an. Mit der Geißelfärbung konnte Schaudinn keine undulierende Membran (was, wie es scheint, das Ektoplasma s. S. 182 ist) wahrnehmen, während sie bei Spirochaete refringens nach Behandlung mit Loefflers Beize zu sehen war.

Die Länge der Spir. pall. wird zu 4 bis 15 μ angegeben, ihre Dicke fast unmeßbar, höchstens ¼ μ, ihre Windungszahl zu 6 bis 14 bis 26; andere Autoren haben auch Exemplare mit nur 2, 3 und 4 Windungen gesehen (A. Buschke und W. Fischer, DmW. 05. 791; K. Herxheimer und Löser, MmW. 05. 2212). In der Fig. 66 der Taf. XI sind ebenfalls blasse Spirochäten mit nur 2 bis 3 Windungen vorhanden. In Fig. 65 sieht man ferner die lange Spirochäte mit einem Ende an einem roten Blutkörperchen hängen, was zuerst von H. Ploeger (MmW. 05. 1381) als eine bei Spir. pall. öfter vorkommende Erscheinung genannt wird.

Die Windungen sind eng, steil, korkzieherartig, bei langen Exemplaren sind sie im fixierten Präparat höchstens in der Mitte etwas gestreckt. Nach den Enden zu nimmt die Höhe der Windungen ab. Ihre Wellenlänge beträgt etwa 1 μ.

Die Enden sind fein, scharf und zupespitzt; manchmal ist das Ende schleifenartig aufgewickelt (G. Sobernheim und E. Tomasczewski, MmW. 05. 1857). An den Enden haben Schaudinn, nachher Herxheimer und Löser zwei feinste Fortsätze gesehen, die als Geißeln bezeichnet werden. V. Babes und J. Panea betonen die Aehnlichkeit der ganzen Spirochäte mit einer Geißel (BkW. 05. 1506).

Zu Zöpfen verschlungene Spirochäten in Knäueln von 20 bis 40 Exemplaren sah zuerst P. Mulzer bei einem frischen syphilitischen Primäraffekt (BkW. 05. 1022).

Ein als Längsteilung imponierendes Bild einer Spirochäte pallida ist von E. Hoffmann (DmW. 06. 871) veröffentlicht worden. Auch E. Bertarelli sah ähnliche bei der syphilitischen Keratitis des Kaninchens.

Die Spirochaete refringens und andere Spirochäten unterscheiden sich von der Pallida durch ihre meist größere Dicke, stärkere

Digitized by Google

Färbbarkeit und den mehr bläulichen Ton, den sie bei der Giemsafärbung annehmen, durch die Zahl der Windungen, die nie 10 bis 26 erreicht; die Windungen sind flacher, grobwelliger, weiter und spärlicher, nicht so gedrechselt korkzieherartig wie bei der Pallida (vergl. Fig. 25 und 63 auf Taf. IV und XI die Spirochäten aus Zahnbelag und Mandelpfropf). Derartige Spirochäten kommen nur an der Oberfläche des Körpers, in jauchigen Massen und auf ulzerierten Stellen vor und verschwinden nach der Tiefe zu mehr und mehr; so gut wie niemals werden sie in inneren Organen gefunden.

Mit Loefflers Blau und der Gramschen Färbung sind weder die Pallida noch die anderen Spirochäten darzustellen.

Die Syphilis ist auf gewisse Affenarten übertragbar, wie E. Metschnikoff und E. Roux in Nachprüfung vereinzelter früherer Untersuchungen an Schimpansen und Makaken (zuerst AP. 03. 809) und A. Neißer in umfangreichen, mit G. Baermann und Halberstätter auf Batavia angestellten Versuchen erwiesen haben (DmW. 06. 1). E. Hoffmann hatte mit der Uebertragung des Blutes von Syphilitikern auf die skarifizierte Haut von Affen, wenn auch nicht in allen Fällen, Erfolg und konnte bei den infizierten Tieren die Spirochaete pallida nachweisen (Bkw. 05. 1450 und DmW. 06. 496).

E. Bertarelli erhielt unter besonderen Umständen positiven Erfolg bei der Einimpfung spirochätenreichen Materials in die Kornea des Kaninchens (C. 41. 320).

Blut.

Rückfallfieber.

Die **Spirochaete Obermeieri** ist 1873 von O. Obermeier entdeckt und von R. Koch 1881 photographisch wiedergegeben worden (KGA. Mittl. 1. 1). Die korkzieherförmigen Gebilde haben 6 bis 20 Windungen, gerade oder umgebogene, zugespitzte Enden und eine schnelle drehende Eigenbewegung. Bei rascher Antrocknung des Blutausstrichs erscheinen nach der Färbung peitschenartig geformte Spirochäten mit gestreckten, unregelmäßigen und weit gewordenen Windungen; tötet man sie aber vorher ab oder läßt sie im Blute absterben, so bekommt man gleichmäßig geformte, feine Spiralen (R. Koch). Sie sind zur Zeit des Fieberanfalls im Blute, verschwinden in der fieberfreien Zeit daraus und können dann, wie sowohl am Menschen, als auch von Metschnikoff 1887 am geimpften Affen nachgewiesen worden ist, in der Milz gefunden werden, dort zum Teil frei, zum Teil in Mikrophagen eingeschlossen. Die fieberfreien Zeiten schieben sich bei der menschlichen Erkrankung in 7-, dann 8-, dann 10- bis 12tägigen Zwischenräumen ein, während deren jedenfalls eine neue Generation des Erregers heranwächst, bis seiner Entwicklung durch gebildete Immunstoffe ein Ziel gesetzt wird, falls der Kranke die Infektion übersteht, was bei durchschnittlich 93,5 % vorkommt.

Die Färbung gelingt mit den gebräuchlichen Anilinfarbstoffen, jetzt wird wohl meistens Giemsafärbung genommen werden. Die Spirochäten bleiben außerhalb des Körpers im Blute längere Zeit beweg-

Digitized by Google

lich, in Kapillarröhrchen eingeschlossen eine Woche und länger. Im Blutegeldarm halten sie sich nach Th. Pasternacki und J. Karlinski bis zum 20. Tage. Die Versendung von Spirochäten in Blutegeln aus Rekurrensländern in entfernt gelegene Laboratorien hat sich als durchführbar erwiesen (A. Wladimiroff, Hbd. d. path. Mikr. 3. 75).

Für die Färbung in Schnitten hat E. Bertarelli die mit G. Volpino ausgearbeitete Methode für die Darstellung der Spir. pallida geeignet gefunden und die Rekurrensspirochäten als ganze oder zerstückelte Exemplare nachgewiesen (C. 41. 74 und 492):

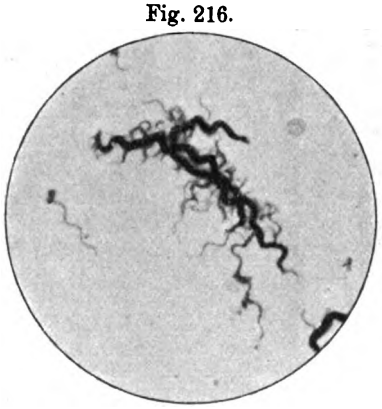
Sehr kleine Gewebsstücke für 4 Tage in: Silbernitrat 1,5; Aq. dest. 50; Eisessig 4 bis 5 Tropfen; das Bad erneuern, wenn Niederschlag entsteht.

Nach mehrfachem sorgsamem Waschen in dest. Wasser für 24 Stunden in den Reduktor von van Ermengem (s. S. 202): Tannin 3; Gallussäure 5; Natr. acet. 10; Aq. dest. 350. Das Bad erneuern, wenn sich Trübung zeigt.

Sorgsames Auswaschen in dest. Wasser. Alkohol. Chloroform. Paraffin.

Die künstliche Uebertragung gelang bisher nur auf Menschen und auf Affen, für die natürliche Infektion beschuldigte J. Tictin Wanzen als Vermittler (s. auch L. Heim, Lehrb. d. Hyg. S. 328). R. Koch sieht damit nur die natürliche Voraussetzung bewiesen, daß die Spirochäten im Magen der Wanzen, die am Kranken gesogen haben, vorhanden sein müssen (s. dazu Taf. XII, Fig. 69), dagegen nicht, daß die Wanzen eine Rolle bei der Uebertragung der Rekurrens spielen.

Fig. 216.



Beim afrikanischen Rückfallfieber sind R. Kochs Untersuchungen zufolge Zecken und zwar Ornothodorus moubata die Ueberträger, denn er fand die Erreger in ihren Ovarien, ferner in 20 bis 25 % der Eier und in den daraus entwickelten jungen Zecken und stellte, wie die englischen Forscher Dutton und Todd, fest, daß Affen durch den Biß solcher Jungen infiziert werden können. Da die Krankheit auf Ratten durch Biß des infizierten Ornithodorus übertragbar ist, kommen diese Nager möglicherweise für die Weiterverbreitung des Infektionsstoffes mit in Frage. Mäuse konnten nur durch intraperitoneale Einverleibung infiziert werden. Nach Ueberstehen der Krankheit folgt Immunität, wie Koch und Kudicke bei Affen erwiesen haben.

Der afrikanische Rückfalltyphus wird durch ganz ähnliche, vielleicht etwas längere Spirochäten wie der europäische erzeugt, die Parasiten wurden aber nur ganz vereinzelt im Blute gefunden, im hängenden Tropfen dagegen die allmähliche Bildung von Haufen beobachtet; der einzelne Fieberanfall dauert nicht länger als 3 Tage; beim europäischen Fieber sind die Spirochäten viel zahlreicher im Blut und der Anfall dauert 6 bis 7 Tage (R. Koch, BkW. 06. 187).

Teilung der Spirochäten konnte sowohl R. Koch als E. Zettnow nur in der Quere, nicht der Länge nach beobachten (Unterschied von Trypanosomen); Zettnow fand ferner an jedem Ende einen kleinen

Digitized by Google

Anhang, der keine Geißel sein kann, da er mit einfacher Methylenblaulösung darzustellen ist. Die Darstellung von Geißeln gelang ihm nach Vorbehandlung mit seiner Tanninantimonbeize. Um Niederschläge zu vermeiden, wurde das Blut folgendermaßen vorbereitet:

Defibrinieren, Zentrifugieren, Abgießen des Serums.

Abschwemmung der weißen, spirochätenhaltigen Schicht vom Bodensatz mit physiol. Kochsalzlösung.

Dreimaliges Waschen und Auszentrifugieren zur Wegschaffung des Serums, schließlich Aufschwemmen der Spirochäten in Wasser.

Sofortige Verteilung in dünnster, möglichst schnell trocknender Schicht auf reinen Deckgläsern. Beizen und färben.

Fig. 216 zeigt die auf solche Weise dargestellten Geißeln nach einem Photogramm von Zettnow (DmW. 06. 376); sie sitzen endständig; wo die Spirochäten noch zusammenhängen, ragen die Geißeln seitlich heraus.

Untersuchungen von Blut im allgemeinen.

Zur mikroskopischen Untersuchung und zur Anstellung der Agglutination liefert ein kleiner Einstich oft genügendes Material. Die Haut muß vorher gut gereinigt sein; ist sie sonst sauber, genügt Aether. Das Ohrläppchen ist in der Regel reiner als die Fingerbeere. Zum Einstich kann eine Nadel dienen, besser ist ein Skalpell oder eine Art Fliete, z. B. das Instrument nach Cowl (Fig. 217), bei dem ein Druck auf eine Feder eine lanzettartige Spitze einige Millimeter weit vorschnellt. Ein etwas größeres, für das Ohrläppchen passendes Instrument hat H. Conradi angegeben.

Fig. 217.

Die Auffangung geschieht am einfachsten in kleinen Reagenzgläsern, die mit Stopfen versehen an die Untersuchungsanstalt gesandt werden.

E. Schottelius läßt das Blut in einem Schwamm aufsaugen, der mittels eines Stiftes im Stopfen eines spitz zulaufenden Zentrifugengläschens befestigt ist. Im Laboratorium wird das flüssige Serum ausgeschleudert. E. Czaplewski ersetzte den Schwamm durch einen Wattetupfer (Beschreibung der Bluttupferröhrchen MmW. 06. 508).

Ein gerinnungshemmendes Mittel dem entnommenen Blute zuzusetzen ist unnötig; es sind deren verschiedene empfohlen worden:

Sterile 2proz. Lösung von zitronensaurem Natron im Verhältnis von 1 : 5 Blut (Hdb. d. path. Mikr. 3. 345);

eine Lösung von 5 g Pepton und 50 g Traubenzucker in 100 ccm Wasser, etwa zu gleichen Teilen zum Blut (Rolly MmW. 04. 1041);

Blutegelextrakt 0,1 in 2,5 physiol. Kochsalzlösung = Hirudinlösung, an 2 Tagen diskontinuierlich auf 80° erwärmt und zu 0,4 ccm in kleine Reagenzröhrchen abgefüllt (R. Müller und H. Gräf, MmW. 06. 69);

Rindergalle 90 ccm mit 10 g Pepton Witte und 10 g Glyzerin 2 Stunden im Dampf sterilisiert nach H. Conradi (DmW. 06. 58).

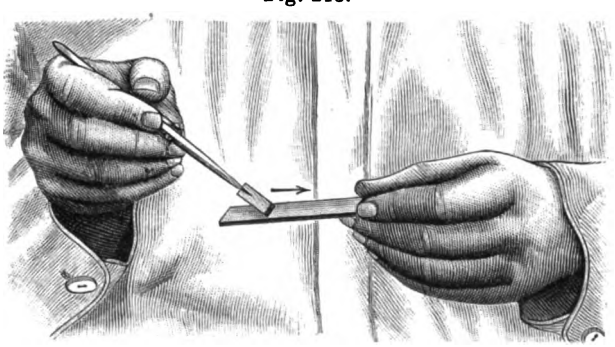
Für die Kultur muß man ziemlich viel Blut nehmen, um eine hinreichende Menge Keime zur Aussaat zu bringen, mindestens 1 ccm; für die Typhusdiagnose sollen es mindestens 2,5 ccm sein (s. S. 413), für andere Zwecke noch mehr, bis 20 ccm. H. Schottmüller entnimmt das Blut nach dem Vorgange von G. Sittmann, R. Stern u. a. aus einer durch eine Gummibinde bis fast zum Verschwinden des Radialpulses gestauten Vene der Ellenbeuge mittels einer trocken sterilisierten Lüerschen Spritze (s. S. 163) von 20 ccm Inhalt. Die Hautstelle braucht vorher nur mit Aether gereinigt zu werden. Die

Digitized by Google

6 bis 7 cm lange Hohlnadel soll ziemlich dick sein, damit das Blut leicht und schnell einströmen kann; meist ist der Blutdruck so stark, daß der Stempel von ihm allein zurückgeschoben wird und ein Zug fast überflüssig ist (MmW. 02. 1561). Schröpfköpfe sind weniger zu empfehlen, weil es nicht leicht ist, das Instrument zu sterilisieren und die Haut gehörig keimfrei zu machen.

Zur Aussaat wird das Blut zu je 2 bis 3 ccm in etwa 6 Röhrchen mit verflüssigtem, auf 45° abgekühltem Agar verteilt. Im Umkreis der auf solchen blutig gefärbten Nährböden gewachsenen Ansiedlungen ist mitunter eine Aufhellung der Blutfarbe zur Farblosigkeit bis zu einigen Millimetern Breite wahrzunehmen, z. B. bei Staphylokokken, Streptokokken, Choleravibrionen (hier zuerst von R. Koch 1884 gesehen), aber durchaus nicht bei allen Kolonien desselben Stammes. Man hat dies für Hämolysinbildung gehalten. Das Vorhandensein einer solchen darf jedoch nur angenommen werden, wenn

Fig. 218.



die durch Filtration keimfrei gemachten Bouillonkulturen die Auflösung von roten Blutkörperchen erkennen lassen (s. S. 235 f.).

Die durch die Blutuntersuchung gewonnenen Ergebnisse sind vielfach in den vorangehenden Abschnitten erwähnt worden. Ausführliches ist darüber bei H. Lenhartz, Die septischen Erkrankungen (3. Band der spez. Path. und Ther. von H. Nothnagel) zu finden.

Zur mikroskopischen Untersuchung muß das Blut in so dünner Schicht verteilt werden, daß die Blutkörperchen möglichst nebeneinander liegen. Das gelingt leicht, wenn man, wie Fig. 218 zeigt, ein in der Pinzette gehaltenes Deckgläschen, dessen untere Kante mit dem Blutstropfen benetzt worden ist, in einem Winkel von etwa 50° gegen den Objektträger (oder ein anderes Deckglas) hält und nun von rechts nach links darüber streicht, so daß ein deckglasbreiter Streifen dünn ausgebreiteten Blutes entsteht (Methode nach N. Jancsó und M. Rosenberger, D. Arch. f. klin. Med. 57. 449).

Die Fixierung der Blutpräparate geschieht entweder mit absolutem Alkohol 20 bis 30 Minuten oder mit Aetheralkohol zu gleichen Teilen; man bringt einige Tropfen aufs Präparat und wartet, bis sie halb verdunstet sind; oder mit Aceton durch 5 Minuten (N. Jagić, WkW. 06. 587); oder mit Methylalkohol in 2 bis 3 Minuten.

Digitized by Google

Beim Ziehen durch die Flamme läßt sich die geeignete Temperatur nicht abpassen. Für Hitzefixierung (namentlich zu histologischen Zwecken) empfiehlt A. Kowarsky anstatt der Ehrlichschen Kupferplatte eine Kupfertrommel von 9 mm Dchm., deren 1 cm hohe Seitenwand durchlocht ist; die Trommel wird mit einem Handgriff über die Flamme gehalten, so daß deren Spitze den unteren Boden eben berührt. Oben wird ein Kristall Harnstoff (Schmelzpunkt 132 bis 135°) und darauf das Deckglas gelegt; sobald das Kristall schmilzt, hält man das Ganze noch 1 Minute lang etwas höher, etwa 10 cm von der Flamme entfernt, hört dann mit der Erwärmung auf und wartet, bis der Harnstoff wieder erkaltet ist. Damit ist die Fixierung beendet. Will man in jedem Fall eine Ueberschreitung von 150° vermeiden, dann bringt man noch 1 bis 2 Tropfen Terpentinöl neben das Deckglas und hört mit der Erhitzung auf, sobald die Flüssigkeit zu sieden beginnt (BkW. 03. 231).

Tierische Blutparasiten.

Man kennt Filaria, Trypanosoma, Piroplasma, Plasmodium u. a. Die Erreger gelangen durch den Stich des von ihnen befallenen Insekts (Mücke, Zecke) ins Blut der Warmblüter. Eine Darstellung sämtlicher liegt nicht im Rahmen dieses Buches. In unseren Breiten interessiert von den menschlichen Erkrankungen am meisten die Malaria. R. Ross hat zuerst den Entwicklungszyklus und Generationswechsel der Parasiten unter Heranziehung der durch Culex übertragenen Vogelmalaria studiert und entdeckt, daß sich die Erreger der menschlichen Malaria im Anophelesweibchen weiter entwickeln, wenn sie in der geschlechtlichen Form mit dem Blute von ihr gesogen werden, B. Grassi hat den Entwicklungsgang der für den Menschen in Betracht kommenden Malariaparasiten im Menschen und im Anopheles klargelegt und R. Koch hat die in epidemiologischer und prophylaktischer Beziehung wichtige Tatsache festgestellt, daß die menschlichen Malariaparasiten nur zwischen dem Menschen und der Stechmücke zirkulieren, und ein anderer Wirt nicht existiert. Lückenlos ist die Entwicklung des Tropenfieberparasiten in der Mücke noch nicht ermittelt, man ist zur Erklärung eines Teiles der Entwicklungsvorgänge noch auf die Analoga bei der Vogelmalaria angewiesen. Auf diese soll hier nicht eingegangen, sondern lediglich eine Uebersicht über die im menschlichen Körper vorkommenden Malariaparasiten und ihre Formen gegeben werden. Ihre Darstellung ist nach R. Ruge (Hdb. d. path. Mikr. 1. 701) erfolgt.

Die Malariakrankheiten des Menschen.

Fieberarten	Erreger	Entwicklungsdauer
1. Febris tertiana	Plasmodium vivax	48 Stunden
2. Febris quartana	„ malariae	72 „
3. Febris tropica	„ praecox	24 bis 48 „

Der Zwischenwirt ist bei allen 3 Arten das Anophelesweibchen.

Alle 3 Parasiten bilden sogenannte Ringformen, Ringe mit kleinen Köpfchen; nur bei der Quartana sind sie nicht regelmäßig und haben

Digitized by Google

die Neigung, breiter zu werden. Bei der Unterscheidung im mikroskopischen Präparat zur Diagnosenstellung handelt es sich außer um die Größe der Ringe um die Art und Weise ihrer Weiterentwicklung zu amöbenähnlichen Formen (Tertiana), zu bandartigen Gebilden und amöbenähnlichen Formen (Quartana) oder von sehr kleinen Ringen zu größeren und schließlich zu halbmondförmigen Gebilden (Tropica). Bei der Tertiana ist das Aussehen der roten Blutkörperchen sehr charakteristisch; die von dem Parasiten befallenen Erythrozyten sind vergrößert, färben sich blasser und sind unregelmäßig begrenzt.

Die endliche Entwicklung der Parasiten kann in jedem Falle eine ungeschlechtliche und eine geschlechtliche sein.

Die ungeschlechtliche Form entwickelt sich, wenn der Mensch nicht zu Grunde geht oder nicht immun wird, das heißt wenn nicht Heilung erfolgt, weiter und beginnt den Kreislauf von neuem.

Die geschlechtliche Form macht im Anophelesweibchen ihre Entwicklung durch; im Darm erfolgt die Kopulation von männlichen und weiblichen Parasiten und bei geeigneter Außentemperatur (18 bis 30°) wächst eine neue Generation binnen 8 bis 12 Tagen bis zu den endlichen Sichelkeimen, die auf dem Wege des Zirkulationsapparates in die Speicheldrüsen gelangen und aus diesen beim Einstich kurz vor dem Blutsaugen in ganzen Klumpen unter die Haut des gestochenen Menschen entleert werden (unter dem Mikroskop von F. Schaudinn, KGA. Arb. 20. 418, beobachtet).

1. Plasmodium seu Haemamoeba vivax, der Tertianparasit (s. dazu Taf. XIII, Nr. 78 bis 83).

Auf der Höhe des Fieberanfalls: Siegelringform; das Blutkörperchen ist vergrößert, blasser (mit Methylenblau blaßgrün gefärbt).

24 Stunden nach dem Anfall: Teils große Tertianringe, teils amöbenähnliche; bei geeigneter Färbung (mit Romanowsky-Giemsalösung) erscheinen eigentümliche Tüpfel in den befallenen roten Blutkörperchen (sogenannte W. Schüffnersche Tüpfelung).

38 Stunden nach dem Anfall: Amöbenähnliche, zusammenhängende oder zerrissene Formen, in denen reichlich Pigment zerstreut ist.

45 Stunden nach dem Anfall: Scheiben mit Pigment in Streifen oder zusammengeballt in Klümpchen; Vorbereitung zur Teilung.

Später: Rundlich mit gelappter Umrandung, Pigment in der Mitte zusammengezogen; Maul- oder Himbeerform.

Später: Zerfall dieser Morulaform in 15 bis 25 kleine Merozoiten (kleine ringförmige Gebilde) = ungeschlechtliche Form. Das Blutkörperchen ist geplatzt.

Geschlechtsformen: Gameten (früher auch Sphären genannt). In ihrem Innern ist, meist dem Rande zu gelegen, eine große ungefärbt bleibende rundliche oder ovale Stelle, im übrigen Körper ist das Pigment über den ganzen Parasiten zerstreut:

a) Weiblicher Gamet, Makrogamet: 10 bis 14 μ groß, feiner pigmentiert und intensiv blau färbbar, der ungefärbt bleibende Ausschnitt ist kleiner als beim folgenden.

b) Männlicher Gamet, Mikrogametozyt: 8 bis 9 μ groß, gröber pigmentiert, schwach graugrün färbbar, mit großem ungefärbtem Ausschnitt.

Digitized by Google

2. Plasmodium seu Haemamoeba malariae, der Quartanparasit:

Im Anfall: Ringe wie die kleinen Tertianringe.

24 Stunden später: Bandartige Form mit der Neigung sich zu verbreitern. Blutkörperchen nicht vergrößert und nicht blasser.

48 Stunden: Das Band wird ums Doppelte und Dreifache breiter und ist noch stark pigmentiert.

72 Stunden: Das Band ist noch breiter geworden, hat 4, später 8 Einkerbungen. Das Pigment zieht sich auf einen Punkt zusammen (Teilungsfigur).

Abtrennung der jungen Parasiten, 6 bis 14 an der Zahl (meist 8): Gänseblümchenform nach C. Golgi. Das Blutkörperchen ist geplatzt.

Der Parasit ist niemals größer als das Blutkörperchen.

Geschlechtliche Form: Die im Blutkörperchen liegenden Gameten sind kleiner als die bei der Tertiana, die frei im Blute befindlichen sind von denen der Tertiana nicht zu unterscheiden.

3. Plasmodium seu Haemamoeba praecox, der Parasit des Tropenfiebers.

Bei Neuerkrankten im peripheren Blute ausschließlich Ringe, die später zu mittleren und großen Ringen wachsen.

Im Fieberanstieg: Entweder nichts zu finden oder kleine, haarfeine Tropenringe, doppelt so groß wie die vorigen, manchmal zwei gegenüberstehend.

Im Fieberanfall: Große Tropenringe, nicht zu unterscheiden von den kleinen Tertianringen (⅓ des Blutkörperchens). Blutkörperchen niemals vergrößert, eher etwas geschrumpft und nicht verblaßt.

Kurz vor der Teilung: Kleine blaue, unregelmäßig begrenzte Scheiben, ähnlich dem scheibenförmigen Quartanparasiten, aber wesentlich kleiner und etwa ⅓ kleiner als der Tertianparasit.

Das Pigment sammelt sich in der Mitte zu einem Klumpen; um diesen liegen 8 bis 25, gewöhnlich 12 Parasiten.

Geschlechtliche Form (Gameten):

a) Halbmonde; sie finden sich erst nach mehreren Fieberanfällen und sind etwa 1½mal so lang als ein Blutkörperchen und etwa halb so breit. Die Pole sind stärker gefärbt als die Mitte; in der Mitte liegt kranzartig geordnetes Pigment in Form kleinster Stäbchen.

Das befallene Blutkörperchen ist verblaßt, aber nicht gequollen, nur der Rand ist von den Polen des Parasiten vorgebuchtet.

Bei Romanowskyfärbung erscheinen:

die weiblichen Gameten stark blau mit wenig Chromatin,

die männlichen schwach blau mit viel Chromatin.

b) Geißelkörper; sie kommen im menschlichen Körper nicht vor, aber außerhalb, sowohl im feucht gehaltenen Blutstropfen, als insbesondere im Mückenkörper.

Färbung der Malariaparasiten.

Das aus der Fingerbeere oder dem Ohrläppchen entnommene Blut wird in der S. 461 beschriebenen Weise dünn ausgestrichen. Zum

Digitized by Google

Nachweis spärlicher Parasiten empfiehlt R. Ross dagegen eine dicke Schicht Blut auszustreichen und ihm die Undurchsichtigkeit durch Auswaschen des Hämoglobins zu nehmen dadurch, daß man das Deckglaspräparat für etwa 1/4 Stunde in Eosinlösung legt oder bis zur Entfärbung mit Wasser wäscht und dann färbt (r. C. 33. 418 und 36. 185).

Die Fixierung erfolgt in der S. 461 genannten Weise.

Zur einfachen Färbung wird die Boraxmethylenblaulösung nach P. Manson empfohlen. Sie wird hergestellt aus: Wasser (kochend) 100 ccm, Borax 5 g, Methylenblau medicinale (Höchst) 2 g. Die Lösung muß vor dem Gebrauch verdünnt werden: Man gießt so viel ins Reagenzglas, daß der Boden etwa 1/2 cm hoch bedeckt ist und füllt so lange dest. Wasser nach, bis das Licht eben durchscheint.

Man nehme zwei Bechergläser, von denen das eine mit dieser verdünnten Farblösung, das andere mit Wasser gefüllt ist; der Objektträger wird für 10 bis 15 Sekunden in die Farbflüssigkeit getaucht, bis das Präparat mattgrün aussieht, dann im Wasser abgespült und getrocknet.

Die Romanowskyfärbung wird heute mit der Giemsalösung in folgender Weise gemacht:

In ein weites graduiertes Reagenzglas gibt man dest. Wasser und setzt zu diesem auf je 1 ccm 1 Tropfen der Farblösung (s. S. 42 f.) unter Umschütteln; vorherige Anwärmung des Wassers auf 30 bis 40° begünstigt die Färbung.

Einlegen der fixierten Deckglaspräparate in ein Blockschälchen mit der Schichtseite nach unten.

Uebergießen mit der frisch verdünnten Farblösung; 10 bis 15 Minuten wirken lassen.

Abwaschen mit scharfem Wasserstrahl.

Abtupfen mit Fließpapier, trocken werden lassen und einbetten in säurefreien Kanadabalsam.

Kommt es auf die besondere Färbung bestimmter Blut- oder Parasitengebilde an, die sich nur in alkalischen Farbflotten färben, z. B. der G. Maurerschen Perniciosaflecken, der Kapseln der Halbmonde u. a. m., dann setzt man zu je 10 ccm dest. Wasser 1 oder 2 Tropfen einer 1proz. Kaliumkarbonatlösung vor der Mischung mit dem Farbstoff (G. Giemsa, C. 37. 311).

Der Effekt der Romanowskyfärbung ist nach R. Ruge (Handb. d. path. Mikr. 1. 820) folgender: Es werden

die Malariaparasiten blau,
die Chromatinkörner rot,
die orthochromatisch gefärbten Erythrozyten rosa,
die polychromatisch gefärbten Erythrozyten rotviolett oder purpurrot,
die Kerne der Lymphozyten und großen mononukleären weißen Blutkörperchen dunkelviolett,
die Kerne der polynukleären Leukozyten lila,
das Plasma der Lymphozyten und der großen mononukleären Leukozyten himmelblau mit vereinzelten roten Stippchen,
das Plasma der polynukleären Leukozyten graurot,
die Blutplättchen dunkelviolett bis schwarzrot, ihr Rand, was für sie charakteristisch ist, wie aufgefasert.

Milch.

Die Milch im Innern der Brustdrüse gesunder Individuen ist keimfrei. J. Simon hat unter meiner Leitung im Schlachthof 12 Drüsen von Kühen sofort nach der Schlachtung untersucht; davon erwiesen

Digitized by Google

sich acht als gesund, und die Aussaat des in ihnen enthaltenen Sekrets auf Gelatine- und Agarplatten blieb steril, gleichviel ob die Milch aus der Drüse selbst, d. h. aus der sogenannten Zisterne oder aus dem Strichkanal und sogar aus dem äußersten, 1 cm langen, engen Verschlußteil entnommen worden war. Keime sitzen, wie sich zeigte, nur am äußersten Ende, nämlich an der Mündung des Verschlußteils ins Freie, unmittelbar dahinter beginnt bereits die keimfreie Zone. In den übrigen 4 Fällen wurden lediglich Streptokokken, sonst keine anderen Bakterien nachgewiesen, in drei von ihnen war die Milch im Euter schon fürs bloße Auge abnorm wäßrig und von rötlicher oder rötlichgelber Farbe. Es wird dadurch erklärlich, wie eine Sammelmilch stark streptokokkenhaltig werden kann; sie braucht bloß mit einem einzigen derartigen Sekret verunreinigt worden zu sein; bei genügender Außenwärme, also besonders im Sommer wird dann eine Anreicherung mit Streptokokken erfolgen (s. S. 469 f.).

Bakterien befinden sich bei gesunden Tieren lediglich außen an der Haut bis zur Zitzenmündung und in dieser, von dort werden sie mit dem ersten Milchstrahl teilweise weggeschwemmt. Darum sind erfahrungsgemäß die ersten gemolkenen Portionen keimreicher als die folgenden. Je unreinlicher es hergeht, desto mehr Bakterien gelangen in die Milch. Das haben zahlreiche Versuche erwiesen. So fanden z. B. Backhaus und O. Appel die Milch der Versuchstierhaltung des landwirtschaftlichen Instituts in Königsberg im Winter mit einem Durchschnittsgehalt von 6250, im Sommer von 17120 Keimen im Kubikzentimeter und die Morgenmilch im allgemeinen keimreicher als die Mittags- und Abendmilch, in der Marktmilch dagegen im Mittel 4250000 Keime im Kubikzentimeter. Werden ganz besondere Reinlichkeitsmaßregeln angewendet, wie es z. B. in einer Versuchsreihe von 43 Proben in der Bolleschen Meierei geschah, dann war der Keimgehalt wesentlich niedriger, er betrug nach W. Kolle 90 bis einige Hundert, doch auch bis 15000 im Kubikzentimeter (Klin. Jahrb. 13. 1).

Keimzahlbestimmungen. Feste Nährböden werden sowohl direkt mit $^1/_2$ oder 1 ccm beschickt, als auch nach vorheriger Verdünnung des Ausgangsmaterials, denn zumeist ist es sehr keimhaltig. Man wird also von Marktmilch 1 ccm in 100 ccm sterilen Wassers geben und davon 10 ccm mit weiteren 90 ccm sterilen Wassers vermischen, also ähnlich wie bei den Untersuchungen sehr keimreichen Wassers (s. S. 481) verfahren. Derartige Aussaaten werden zumeist auf gewöhnliche Nährgelatine gemacht; sie bringen hauptsächlich die Saprophyten zum Vorschein. Um eine größere Zahl und insbesondere die für den Molkereibetrieb wichtigen Arten zur Entwicklung gelangen zu lassen, wird die Molkengelatine benutzt, wie sie O. Appel nach der Vorschrift von G. Leichmann und in der schwerer schmelzbaren Form nach J. Forster (s. S. 90) dargestellt hat (C. II. 5. 762).

Flüssige Nährmittel wurden von J. Petrutschky und M. Kriebel in demselben Sinne angewendet wie bei der Bestimmung des Koli- und Mesophilentiters im Wasser (s. S. 488). Es wird ermittelt, in welcher Verdünnung noch eine Trübung der bei Körperwärme gehaltenen Bouillon stattfindet; ist dies z. B. in dem Bouillonröhrchen der Fall, das mit 0,3 ccm der Milchverdünnung von $1 : 10^8$, aber nicht mehr

Digitized by Google

in dem Röhrchen, das mit 0,1 ccm der genannten Verdünnung geimpft worden war, dann hat man erfahren, daß (1 Keim als Ausgangspunkt der Entwicklung vorausgesetzt) ungefähr 333 Millionen Keime in 1 ccm Milch vorhanden gewesen sein mußten. Zugleich gibt diese Anordnung Auskunft über die am reichlichsten anwesenden Arten, denn diejenigen werden sich in den letzten Verdünnungen finden, die sich in der größten Anzahl in der Ausgangsmilch befunden hatten. Es waren dies in den meisten Fällen, wo bei Sommertemperatur gehaltene Milch untersucht wurde, Streptokokken meist nicht pathogener Art (s. S. 468).

Vorkommende Arten. Je nach der Herkunft der Milch sind die Keime verschieden, es hängt das von der Sauberkeit des Betriebes im allgemeinen, der Verwendung mehr oder weniger unreiner Seihtücher, der Art des Futters und der Stallstreu ab. Sie vermehren sich beim Stehen der Milch, allmählich überwiegen die milchsäuernden.

Milchsäurebakterien. Um sie zu ermitteln, überträgt man nach F. Hueppe eine kleine Menge von spontan sauer gewordener Milch in ein Röhrchen mit sterilisierter Milch; ist die Probe sauer geworden, so wird von ihr ein neues Röhrchen geimpft; in diesen Vorkulturen gewinnen die am besten fortkommenden Gärungserreger immer mehr die Oberhand und können schließlich leicht durch das Plattenverfahren von den nebensächlicheren Keimen getrennt werden.

Die Platten legt man mit Nährgelatine und mit Nähragar an, denn es soll nicht bloß bei Zimmerwärme, sondern auch bei 28° gezüchtet werden, weil die Milchsäurebakterien bei dieser Wärme am besten gedeihen; ferner sollen die schwach alkalischen Nährböden einen Zusatz von 2% Milch- oder Traubenzucker bekommen und außerdem mit einer sterilisierten wäßrigen Kreideaufschwemmung versetzt sein, damit die Säurebildner leichter zu erkennen sind (C. Günther und H. Thierfelder, AfH. 25. 165).

Als Milchsäurebakterien sind verschiedene Arten beschrieben worden, so daß W. Kruse (C. 34. 737) mit Recht von einer Verwirrung spricht, die auf diesem Gebiete herrscht. Er selbst erklärte den Streptococcus lacticus als den gewöhnlichen Erreger der Milchsäuregärung. Dieser Streptokokkus ist mit seinen ovalen, oft stäbchenartigen und zugespitzten Formen, den Diplokokken und kurzen Ketten, dem positiven Verhalten gegen die Gramsche Färbung und mit seinen kleinen Kolonien auf Agar dem Diplococcus lanceolatus der Pneumonie derart ähnlich, daß er als nahe verwandt mit ihm angesehen werden kann. Zum Unterschiede von ihm wächst er auch unter 24° und ist kein Krankheitserreger. Die Stäbchenbildung fand ich in Agarplatten oder Gelatinekulturen so deutlich ausgesprochen, daß ich an eine Verunreinigung dachte, die aber nicht vorlag. Sterile Milch wurde in weniger als 24 Stunden (bei 37°) zur typischen Gerinnung gebracht. Nach Kruse soll die Gerinnung bei den einzelnen Stämmen nicht immer in der gleichen Weise, manchmal überhaupt nicht gelingen.

Die Vorkultur in der Milch ist in jedem Falle anzulegen, wenn man der Milchsäureerreger leicht habhaft werden will. Es genügt,

Digitized by Google

ein steriles Reagenzglas mit Marktmilch zu füllen, einige Zeit bei etwa 20°, noch besser wenige Stunden bei 37° zu halten und dann gefärbte Präparate und Aussaaten auf Platten zu machen. Die mikroskopischen Präparate werden nach dem Trocknen zweckmäßigerweise mit Aether entfettet und nach Gram behandelt; dann wird man in ihnen neben anderen violetten und braunen Bakterien die kurzen grambeständigen Diplokokken und Kettchen leicht finden.

Um jene **Streptokokken**, die wegen ihrer geringen Wachstumsintensität auf den gewöhnlichen festen Nährböden und der Kleinheit ihrer Kolonien von anderen Mikroorganismen auf dicht besäten Platten leicht überwuchert werden, herauszubekommen, kann man auch das folgende Verdünnungsverfahren nach J. Petruschky und M. Kriebel*) anwenden: Man nimmt zunächst 4 Erlenmeyersche Kölbchen I bis IV mit je 50 ccm sterilen Wassers und sät aus in

Kölbchen I 0,5 ccm der Milch; davon in Bouillonröhrchen { 1,0 = Verdünnung 1 : 10^2 ; 0,1 = „ 1 : 10^3

Kölbchen II 0,5 ccm aus Kölbchen I; davon in Bouillon { 1,0 = „ 1 : 10^4 ; 0,1 = „ 1 : 10^5

Kölbchen III 0,5 ccm aus Kölbchen II; davon in Bouillon { 1,0 = „ 1 : 10^6 ; 0,1 = „ 1 : 10^7

Kölbchen IV 0,5 ccm aus Kölbchen III; davon in Bouillon { 1,0 = „ 1 : 10^8 ; 0,1 = „ 1 : 10^9

Durch Einschaltung von Aussaatmengen zwischen 1,0 und 0,1 ccm kann man noch weitere Abstufungen eintreten lassen. Die Bouillonröhrchen bleiben 24 Stunden bei 37° im Brütschrank. Danach werden die ersten Röhrchen eine starke, folgende eine leichte schleierige Trübung zeigen und die letzten klar geblieben sein. Die Röhrchen mit leichtem Schleier enthalten in der Regel Reinkulturen von Streptokokken. Dies wurde selbst in pasteurisierter Milch gefunden.

Andere Milchbakterien. Durch die Vorkultur in Milch werden auch Bakterien, die gewisse unerwünschte Veränderungen der Milch hervorrufen und den Molkereibetrieb unangenehm beeinflussen, gewonnen, z. B. die Erreger der schleimigen Gärung, der bitteren, fadenziehenden Milch, die Erzeuger von Farbstoffen, also Bakterien der blauen Milch (Bac. cyanogenes Amnl JG —), die nur bei Zimmerwärme auf saurem Substrat ihren Farbstoff gut bilden, oder die Bakterien der roten Milch, deren es verschiedene gibt, u. a. Wenn sie auch der Gesundheit nicht nachteilig sind, verleihen sie doch der Milch eine unansehnliche oder ekelerregende Beschaffenheit.

Hinsichtlich der Einzelheiten über diese und andere Dinge muß auf Spezialwerke und Zeitschriften des Molkereibetriebes verwiesen werden. An dieser Stelle sei unter der Reihe der in Betracht kommenden Saprophyten nur noch der Bazillen mit sehr widerstandsfähigen Sporen gedacht, die zur Gruppe der Kartoffel-, Heu- und Buttersäurebazillen gehören und eine gekochte oder im siedenden Wasserbade oder im strömenden Dampf behandelte Milch zum Ver-

*) J. Petruschky und M. Kriebel, Die Ursachen der Sommersterblichkeit der Säuglinge und die Möglichkeit ihrer Verhütung. Experimentaluntersuchungen an der hygienischen Untersuchungsanstalt der Stadt Danzig. Leipzig bei F. Leineweber. 1904.

Digitized by Google

derben bringen können. Die fraglichen Bazillen sind sowohl Anaerobier, als auch Aerobier.

Anaerobier sind unter anderem die **Buttersäurebazillen.** Die Prüfung auf das Vorhandensein von Sporen, insbesondere von Anaerobiern, geschieht am einfachsten durch Einsaat in Milch, die in Bier- oder Selterwasserflaschen mit Patentverschluß gefüllt und sicher sterilisiert ist. Nach der Impfung mit der verdächtigen Milch wird die Flasche 30 Minuten auf 100° erhitzt, dann luftdicht verschlossen und in den Brütschrank gestellt, wegen etwaigen Zerplatzens vorsichtigerweise in einen Topf. Gegebenenfalls fängt nach etwa 12 Stunden eine Gärung an und schon nach 18 Stunden kann die Milch zersetzt sein. Unter starker Gasbildung wird das Kasein zum Gerinnen gebracht, und Fettteile sammeln sich an der Oberfläche des klaren, gelblichen Milchserums.

Gewisse fakultative Anaerobier und Aerobier kann man in die Gruppe der **Kasein peptonisierenden Bazillen** zusammenfassen. C. Flügge hat 12 Arten aus gekochter und dann bebrüteter Milch isoliert und ZfH. 17. 293 beschrieben, denen folgende Eigenschaften gemeinsam sind: Sie peptonisieren das Kasein und verleihen der Milch dadurch einen kratzigen, bitteren Geschmack, fast gleichzeitig bilden sie Labferment, einige Arten nebenbei Säure, wodurch dann eine langsam fortschreitende, feinflockige Gerinnung des noch nicht peptonisierten Kaseins entsteht. Sie besitzen sehr widerstandsfähige Sporen, die sämtlich die Erhitzung auf 100° mindestens 2 Stunden, auch noch viel länger aushalten und haben ihr Temperaturoptimum zwischen 24 und 44°, teils sind sie thermophil und wachsen zwischen 27 und 54°. Die Differenzierung ist selbst mit Gelatine- und Agarplatten, auch mit Kartoffeln schwierig, am ehesten führen sogenannte Parallelkulturen, d. h. gleichzeitig auf verschiedenen Abschnitten derselben Kartoffel angelegte Kulturen zum Ziel. Tiefer Einstich in alkalische Gelatine läßt die fakultativen von den obligaten Anaerobiern unterscheiden. Wertvolle Unterscheidungsmerkmale liefert die Bedingung der Absterbebestimmungen der Sporen, sowie die Einsaat in sterilisierte Milch. Nach erfolgter Entwicklung muß von der Milchkultur auf Tiere verimpft, größere Mengen davon müssen auf junge Hunde verfüttert werden.

Mehrere Angehörige dieser Gruppe sind schon lange unter dem Namen Kartoffelbazillen bekannt, drei waren darunter, die nach der Kultivierung in Milch außer Pepton ausgesprochene Gifte erkennen ließen, insbesondere bei Verfütterung an junge Hunde. Ein Bacillus peptonificans der vorliegenden Gruppe ist von Lubenau aus Klopsen, nach deren Genuß gastroenteritische Erscheinungen eingetreten waren, gezüchtet worden (s. S. 427).

Krankheitserreger. Von den Bakterien, die aus dem erkrankten Tiere stammend, durch die krankhaft veränderte Drüse in die Milch übergehen können, kommen nach den bisherigen Erfahrungen hauptsächlich Streptokokken und Tuberkelbazillen in Betracht.

Streptokokken sind überraschend häufig gefunden worden, wo danach gesucht wurde, von M. Beck in 62% (außerdem in 30%

Digitized by Google

Tuberkelbazillen). Er spritzte von der frisch bezogenen Marktmilch 2 bis 3 ccm ohne weitere Vorbehandlung oder 1½ bis 2 ccm einer Aufschwemmung der mittels Zentrifuge ausgeschleuderten Rahm- und Bodensatzmasse Meerschweinchen in die Bauchhöhle (Vierteljahrschr. f. öff. Gespfl. 00. 430). Derartige Untersuchungen erfordern viele Tiere und sind deshalb für eine allgemeine Anwendung nicht sehr geeignet.

Mit dem Verfahren von J. Petruschky und M. Kriebel werden, wie S. 468 erwähnt, zwar mit Leichtigkeit Streptokokken aufgefunden, aber das sind dann, wenigstens zumeist, keine krankheitserregenden. Immerhin hatten P. Th. Müller unter den damit von M. Kaiser erhaltenen Stämmen welche gesehen, die pathogenen Arten sehr nahe zu stehen schienen, denn drei von elf zeigten mit spezifischem Serum (pathogener Streptokokken) Agglutination in hoher Verdünnung und dieselben drei Stämme waren gleichzeitig die einzigen, deren entkeimte Bouillonkulturen Hämolysine enthielten (AfH. 56. 51 und 90). E. Baumann hat 13 Stämme von Milchstreptokokken auf Blutagarplatten geprüft, dabei aber keine Hofbildung gesehen, wie bei der Mehrzahl der von pathologischen Prozessen gezüchteten Streptokokken (MmW. 06. 1193).

Tuberkelbazillen. Die mikroskopische Untersuchung gibt keine besonders sicheren Resultate, zumal da eine Täuschung durch säurefeste Grasbazillen leicht möglich ist. Wer sie machen will, muß die Zentrifuge benutzen und sowohl von der Rahmschicht, als auch vom Bodensatz Ausstriche anfertigen, die Präparate müssen entfettet werden, was nach C. Arens mit Chloroform geschehen kann, indem man es gleich der Farblösung zusetzt; der Karbolzusatz soll dadurch sogar entbehrlich werden; die Deckgläser werden für 4 bis 6 Minuten in ein Uhrschälchen gelegt, in dem 12 bis 15 Tropfen einer gesättigten alkoholischen Fuchsinlösung mit 3 bis 4 ccm Chloroform vermischt worden sind und dann in der gewöhnlichen Weise weiter behandelt (C. 11. 9).

Bessere Erfolge werden von einer Homogenisierung und Sedimentierung zu erwarten sein. Um zuvor die Fette wegzuschaffen, hat K. Ilkewitsch Aether benutzt:

20 ccm Milch werden mit verdünnter Zitronensäure zur Gerinnung gebracht und die Molken durch Abfiltrierung entfernt.

Das Kasein wird in Natriumphosphatlösung aufgelöst, hierauf mit 6 ccm wasserhaltigen Aethers versetzt und 10 bis 15 Minuten geschüttelt.

Die Flüssigkeit wird im Scheidetrichter von der Aetherfettlösung befreit und dann zentrifugiert. Damit dabei ein feinflockiger Niederschlag entsteht, der die Tb. mit zu Boden reißen soll, wird vorher so viel verdünnte Essigsäure zur Kaseinnatriumphosphatlösung gesetzt, bis die ersten Zeichen der Gerinnung auftreten (MmW. 92. 68).

W. Thörner entfernte das Fett durch Verseifung: 20 ccm Milch werden mit 1 ccm 50proz. Kalilauge gut durchgemischt und das Röhrchen ins kochende Wasserbad eingehängt, bis die Flüssigkeit gelbbraun geworden ist. Nach Zusatz von 20 ccm Eisessig wird verkorkt und nochmal gut durchgemischt. Nach 3 Minuten langem Verweilen im kochenden Wasserbad muß die Flüssigkeit völlig homogen, durchscheinend und frei von Kaseinflocken sein. Diese Flüssigkeit wird 10 Minuten lang zentrifugiert. Der entstehende geringe gelbliche Bodensatz wird gut ausgewaschen, nochmal zentrifugiert und hierauf auf Tb. untersucht (r. HR. 2. 1091).

In Ermanglung einer Zentrifuge rät B. A. van Ketel seine Karbolmethode an: 15 ccm Milch werden in einem Fläschchen von 100 ccm Inhalt mit 6 ccm Karbolsäure ohne weitere Verdünnung geschüttelt; ist eine milchartige Flüssigkeit entstanden, dann wird das Fläschchen

Digitized by Google

mit Wasser angefüllt und abermals geschüttelt, der Inhalt in ein Spitzglas gegossen und der freiwilligen Sedimentierung überlassen. Nach 12 bis 24 Stunden holt man vom Sediment mit einer Glasröhre Teilchen heraus und macht mikroskopische Präparate; sie werden in Aether oder Chloroform gespült, in Alkohol nachgewaschen oder sogleich in Aetheralkohol ausgewaschen und in bekannter Weise gefärbt (AfH. 15. 123).

Zum Nachweis mittels des Tierversuchs hat K. Obermüller die Milch zentrifugiert und sie dadurch in drei Schichten, Bodensatz, Magermilch und Rahm geschieden, hierauf die Rahmschicht, in die der größere Teil der Bakterien überzugehen pflegt, abgenommen, mit dem Bodensatz vermengt und von diesem Gemisch Meerschweinchen ½ bis 1 ccm in die Bauchhöhle gespritzt. Er erhielt damals bei 38 % der so infizierten Tiere das Bild der echten Tuberkulose. Nachdem sich aber später gezeigt hat, daß das Fett nach intraperitonealer Einbringung Reizerscheinungen hervorruft und auch nicht infektiöse säurefeste Bazillen zur Wirkung kommen läßt, so daß Veränderungen ähnlich der Tuberkulose erzeugt werden (s. S. 390), wird man darauf Bedacht zu nehmen haben, die Milch erst zu verbuttern und sowohl die zurückbleibende Milch auf die eben angegebene Weise, als auch die gewonnene Butter nach der S. 472 beschriebenen Methode auf Tb. zu untersuchen.

Andere Krankheitserreger, die erst nach dem Melken in die Milch gelangt sein können, wie die Erreger von Typhus-, Ruhr-, Cholera- und anderen Darmerkrankungen, Diphtherie u. s. w. sind bis jetzt nur sehr selten aufgefunden worden, obwohl manche von ihnen jedenfalls öfters mit der Milch übertragen worden sind. Aber wenn die Krankheit festgestellt wird, ist von dem angeschuldigten Nahrungsmittel nichts mehr vorhanden. Der Nachweis ist infolgedessen meist nur im Experiment nach künstlichem Zusatz der betreffenden Erreger versucht worden. Ueber das Vorhandensein von Typhusbazillen in der Verkaufsmilch finden sich bis jetzt nur zwei Berichte, einer von W. Kempner und einer von D. Konrádi, der durch Aussaat von bloß 1 Tropfen Milch in 2 von 33 Proben Typhusbazillen erhalten haben will (C. 40. 31). Es kommen dabei dieselben Methoden in Betracht, wie beim Nachweis im Wasser, nur erschwert das Fett die Arbeit, insbesondere für das Anreicherungsverfahren beim Aufsuchen der Choleravibrionen. Man muß sich verbescheiden und kleinere Mengen, etwa 50 ccm Milch in 150 ccm Peptonwasser übertragen.

Für die Wiederauffindung absichtlich zugesetzter Typhuskeime hat sich R. Bassenge mit Erfolg der Aussaaten auf Lackmuslaktoseagar bedient. Vorherige Einengungen des Materials mit Hilfe der Ausfällung mit Bleinitrat und Natriumhypolsulfit (s. S. 495) oder durch Zusatz von agglutinierendem Serum waren nicht von Erfolg begleitet (DmW. 03. 675).

Butter und Käse.

Butter. Sowohl die aus süßem als auch die aus saurem Rahm bereitete Butter ist sehr keimreich; letztere verdankt ihr Aroma den in der Milch zur Entwicklung gekommenen Buttersäure- und anderen Bakterien, doch steht die Süßrahmbutter darum an Keimgehalt nicht zurück.

Digitized by Google

Die **Keimzahlbestimmung** wird nach F. Lafar (AfH. 13. 1) also angestellt: Man nimmt 0,15 bis 0,20 g Butter und stellt das Gewicht in einem sterilen Wägegläschen genau fest. Danach spießt man das Stückchen mit sterilem Platindraht auf und überträgt es in 100 ccm steriles Wasser; das Kölbchen muß so groß sein, daß man den Inhalt, ohne den Wattestopfen zu benetzen, gut umschütteln kann. Was am Platindraht noch hängen geblieben ist, wird am Halse des Wägegläschens abgestreift, dessen abermalige Wägung eine Differenz und damit die Menge der angewendeten Butter ergibt. Das Kölbchen wird so lange im Wasserbade bei 38 bis 40° gehalten, bis die Butter vollständig geschmolzen ist und dann gründlich geschüttelt, so daß eine feine Emulsion entsteht. Von dieser wird 0,01 bis 1,0 ccm ausgesät; die später ermittelte Keimmenge ist auf 1 g zu berechnen. Säureliebende und anaerobe Bakterien kommen dabei nicht zum Vorschein. Trotzdem, daß Lafar nicht mikroskopisch zählte, erhielt er doch Keimzahlen von 2½ Millionen in den inneren und über 47 Millionen in den äußeren Teilen der von ihm untersuchten Münchener Süßrahmbutter, Untersuchungen an Sauerrahmbutter hat unter anderen K. Teichert unter Verwendung einer Molkengelatine mit hohem Schmelzpunkt (s. S. 466) in der Provinz Posen angestellt und zwischen ½ und 22 Millionen Keime ermittelt; was die Arten betrifft, so waren auf 10 Millionen Keime berechnet darin:

Milchsäurebakterien	8 599 000	Rote Hefen	13 000
Kleinzellige Torulahefen	1 326 000	Kahmhefen	2 100
Oidium lactis	58 000	Penicillium glaucum	1 400
		Mucor mucedo	500

Penicillium glaucum spricht W. Eichholz als die alleinige Ursache des Ranzigwerdens an (Diss. Berlin 01).

Hinsichtlich der pathogenen Bakterien gilt das bei der Milch Gesagte: dieselben können auch in Butter erwartet werden; nur sind in der Marktbutter bisher weder Streptokokken, noch Typhus-, noch Cholerabakterien nachgewiesen worden, vielfach dagegen Tuberkelbazillen, und zwar insbesondere dort, wo die milchgebenden Tiere ständig in engen, dunkeln Ställen eingeschlossen gehalten werden, wie in großen Städten, während bei guter Viehhaltung, und wenn sich die Tiere viel im Freien aufhalten können, Milch und Butter viel seltener infiziert sind (L. Rabinowitsch, Z. f. Unt. d. Nahrgm. 00). F. Herr und M. Beninde berechneten aus ihren und den bis dahin veröffentlichten Befunden anderer den Durchschnittswert für die Verseuchung von Buttererzeugungsstellen auf 13% (ZfH. 38. 152). Auch in anderen Milchpräparaten, in der Margarine, im Quark sind Tb. gefunden worden.

Nachweis der Tuberkelbazillen. K. Obermüller, der in fast allen Butterproben aus einer bestimmten Sammelmolkerei Tb. fand, hat ein besonderes Verfahren ausgearbeitet, um das bei der Tierinfektion störende Butterfett auszuschalten, bei dessen Gegenwart auch nicht infektiöse Butter- und Grasbazillen als Fremdkörper pathogen wirken können (HR. 99. 57; MmW. 03. 1188):

Die vorsichtig bei 38° erwärmte Butter wird 10 Minuten lang zentrifugiert; von O. werden 3600 bis 4000 Umdrehungen verlangt.

Danach werden die Schleudergläschen 10 Minuten auf 38 bis 40° nachgewärmt und abermals 10 Minuten zentrifugiert.

Digitized by Google

Die hellgoldgelbe Fettschicht wird abgegossen und die zurückbleibende buttermilchartige Flüssigkeit nochmals 5 bis 6 Minuten auf 36 bis 38° erwärmt und 1 Minute zentrifugiert.

Hierauf werden die Gläschen vorsichtig von der Zentrifuge abgenommen und in Eis gestellt; hier erstarrt das noch in der Probe befindliche Fett zu einem kleinen Tröpfchen; dieses wird mit einem sterilen Häkchen herausgezogen.

Die nun vorhandene milchig aussehende, fettfreie Flüssigkeit wird umgerührt, geschüttelt, in ein steriles Porzellanschälchen gegossen und daraus 0,1 bis 0,5 ccm zur Einspritzung in die Bauchhöhle von Meerschweinchen genommen.

Subkutane Injektion läßt, wie S. 389 dargelegt, jede Täuschung ausschließen. Als Impfstelle soll man nach R. Ostertag und seinen Mitarbeitern die Muskulatur der inneren und hinteren Fläche des Hinterschenkels wählen (s. A. Reitz, AfH. 57. 1).

Käse. Durch die Gärungsvorgänge, nicht zum mindesten durch die dabei entstehende Säure sind den etwa im Ausgangsmaterial befindlichen oder nachträglich hineingekommenen Krankheitserregern die Daseinsbedingungen für die Dauer erschwert. Nach R. Bassenge hindert ein Gehalt von Milch- und Isobuttersäure bei mehr als 0,2% in Bouillon, und an Buttersäure von mehr als 0,1% Typhusbazillen bei einer Wirkungsdauer von 24 Stunden nicht nur in der Entwicklung, sondern er vernichtet auch die bereits in reichlicher Menge vorhandenen: niemals konnten zugesetzte Typhusbazillen in einer Milch wiedergefunden werden, deren Säuregrad 0,4% überschritten hatte. Es ist auch tatsächlich bis jetzt kein Typhusfall bekannt geworden, der mit Sicherheit auf Genuß von Käse zurückgeführt werden konnte; dagegen hat R. Rembold über eine Epidemie berichtet, in deren Mittelpunkt nachweislich eine Käserei gestanden hat; die Infektionen schienen durch die von der Käserei an die Lieferanten wieder zurückgelieferte Magermilch und das Käsewasser hervorgerufen worden zu sein, nachdem ein Käser des Betriebs erkrankt war (r. C. 33. 204). Im Quark und Käse scheinen sich die Typhusbazillen nicht lange zu halten (L. Heim, KGA. Arb. 5. 294 u. a.).

Schweinerotlaufbazillen hat A. Peppler in meinem Institut in einer Art Camembertkäse durch Einspritzung einer Aufschwemmung in die Bauchhöhle von Mäusen erhalten; sie wurden aus dem Exsudat eines am anderen Tage gestorbenen Tieres mit Hilfe der Agarplatte isoliert (s. S. 442). Es ist dies wohl der einzige Fall, wo in einer derartigen Handelsware pathogene Bakterien gefunden worden sind, nachdem Erkrankungen beim Menschen auf ihren Genuß zurückgeführt worden waren.

Wasser.

Die mikroskopische Untersuchung.

Sie hat den Zweck, die Art der schwebenden Stoffe zu ermitteln, soweit das auf optischem Wege möglich ist. Sie kann im Wasser

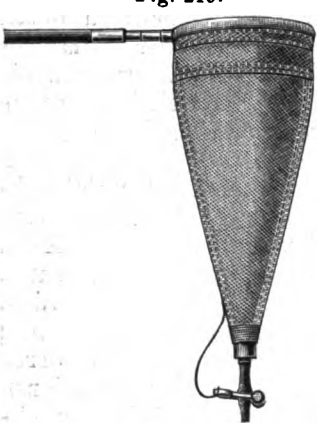
Digitized by Google

oder in Niederschlägen aus ihm, im Eis, Schlamm u. s. w. Dinge enthüllen, die weder mit den bakteriologischen, noch mit den chemischen Methoden herauszubringen sind, nämlich das Vorhandensein von tierischen Mikroorganismen, Protozoen, Infusorien, Diatomen, Algen; sie gibt kurz gesagt Einblick in das „Plankton".

Von den farblosen Algen beanspruchen Beggiatoa, Cladothrix und Crenothrix unsere Aufmerksamkeit, letztere besonders in eisen- und manganhaltigen Wässern, wo ihre Fadengewirre in größter Ueppigkeit gedeihen und als mächtige, von eingelagertem Eisenoxydhydrat rostbraun oder von Mangan braunschwarz gefärbte Massen zur Verstopfung der Rohre und anderen Nachteilen Anlaß geben.

Es werden mit dem Mikroskope ferner Abgänge des menschlichen Haushalts oder von Tieren, z. B. durch Galle gefärbte Teilchen aus Exkrementen, Fasern von Kleiderstoffen oder von gewissen Fabrikbetrieben u. s. w. nachgewiesen werden, soweit sie nicht bereits mit bloßem Auge erkennbar sind.

Fig. 219.



Eingehendes findet man darüber in einschlägigen Werken, z. B. bei C. Mez, Mikroskopische Wasseranalyse (Berlin bei J. Springer 1898). Von den zwei möglichen Arten, die Schwebestoffe zur Untersuchung zu bekommen, dem Absetzenlassen im Spitzglas und der Filtration gibt Mez der letzteren den Vorzug und rät, bei der Entnahme der Proben an Ort und Stelle 15 bis 20 l Wasser durch ein mitgebrachtes Papierfilter zu filtrieren; nach Beendigung soll der ganze Filterrückstand unten im Filter zusammengespült und dann der Boden durchgestoßen werden, damit der gesamte Filterrückstand mit möglichst wenig Wasser in ein kleines Schälchen oder Gläschen gespült werden kann.

Bei Flußwasseruntersuchungen dient das von K. Apstein zur qualitativen Planktonuntersuchung angegebene Planktonnetz aus Seide, sogenannter Müllergaze, von der das Material sehr leicht abgespült werden kann. Die Gaze enthält etwa 5000 Löcher in 1 qcm und hat eine trichterförmige Gestalt; unten ist ein kleines Eimerchen von 3 cm Höhe und 2 cm Durchmesser befestigt, das am Boden mit einem Röhrchen versehen ist; daran wird ein mit Quetschhahn verschließbarer Gummischlauch angesetzt (Fig. 219). In einem solchen Netz bleiben natürlich nur umfangreichere Dinge, wie Krebschenlarven, größere Infusorien, Algen, Holz-, Textilfasern, Schmutzstoffe u. s. w. zurück. Für Trinkwasseruntersuchungen kann man das Eimerchen weglassen. Man hält das Netz so lange unter das ausströmende Wasser, bis etwa $^1/_4$ cbm durchgeflossen ist (R. Kolkwitz, Mittlg. a. d. kgl. Prüfungsanstalt für Wasservers. Heft 2, S. 25).

Für eingesandtes oder mitgebrachtes Wasser rate ich, im Laboratorium die Filtration durch Asbest (s. S. 35) vorzu-

Digitized by Google

nehmen, die unter Druck rasch von statten geht. Sie soll ohnehin angewendet werden, wenn es sich um den genauen Nachweis auch der kleinsten Schwimm- und Schwebestoffe auf chemischem Wege mittels Abdampfung, Glühverlust u. s. w. handelt, wobei die Differenz der Werte für unfiltriertes und filtriertes Wasser bestimmt wird. Ein geringer Teil der Schwimm- und Schwebestoffe geht an den Seitenwänden des Filters in die Tiefe; die Hauptmasse dagegen bleibt oben liegen und kann durch Aufschwemmung der obersten Asbestlage in wenig Wasser für die mikroskopische Untersuchung gewonnen werden.

Die Mengenbestimmung der züchtbaren Mikroorganismen.

Man gibt 1 ccm oder einen genau abgemessenen Bruchteil eines Kubikzentimeters von dem an der zu untersuchenden Stelle soeben entnommenen Wasser mit einer sterilen Pipette in ein Kulturschälchen, gießt 8 bis 10 ccm eines verflüssigten, nicht über 40° warmen Nährmittels darüber, mischt, läßt auf ebener Unterlage erstarren, züchtet bei 20 bis 22° und zählt die gewachsenen Ansiedlungen mikroskopisch aus, wenn keine neuen mehr zu erwarten sind.

Von Eis überträgt man ein nicht zu kleines Stück mit einer sterilisierten Zange in siedendes Wasser, nimmt es, sobald etwa die Hälfte seines Volums weggeschmolzen ist, wieder heraus, hält es über die Flamme eines Bunsenbrenners und läßt noch weiteres Schmelzwasser abträufeln. Hierauf legt man es in ein steriles Gefäß, läßt das Eis schmelzen und macht, ehe noch die Schmelzung vollendet ist, Aussaaten (Fr. Abba, ZfH. 45. 285).

Entnahme. Bei ständig fließendem Wasser hält man ein sterilisiertes Fläschchen unter und läßt es teilweise volllaufen. Bei nicht ständig laufendem Wasser muß man erst einige Zeit ausfließen oder auspumpen lassen. Wenn irgend angängig, sollen außerdem Proben aus dem Brunnenschachte oder dem Reservoir entnommen werden.

Bei Neuanlage einer Grundwasserversorgung ist ein brauchbares Resultat der Untersuchung in Frage gestellt, weil durch die Bohrlöcher alle möglichen Keime hineingelangt sind. M. Neißer hat in solchen Fällen aus einer Lokomobile Dampf mit 2 bis 3 Atmosphären Druck durch einen dampfdichten Schlauch ins Wasser hinabgeleitet. Wenn dieses auf 96° erwärmt ist, wird die Dampfzuleitung unterbrochen und das Wasser so lange durch eine geeignete Pumpe abgepumpt, bis es mit seiner normalen Temperatur herauskommt. Dann wird ein steriles Entnahmegefäß hinabgelassen und eine Probe zur Aussaat heraufgeholt. Ist dieses Verfahren praktisch nicht leicht und einwandfrei auszuführen, so muß man vollends davon absehen, wenn das betreffende Wasser so tief liegt, daß es mit einer Druckpumpe gefördert werden muß. In solchen Fällen wird man auf einen bindenden Entscheid verzichten müssen; so lange das Bohrloch gegen abfallende Teile des aufgegrabenen Erdreichs noch nicht abgeschlossen ist, werden fremde Keime erscheinen, die eine Beurteilung des Wassers erschweren oder vereiteln.

Bei offen zu Tage liegendem oder fließendem Wasser (Flüssen, Seen u. u. w.) wird von der Oberfläche oder aus der Tiefe

Digitized by Google

oder aus beiden, bei Flüssen rechts, mitten und links entnommen, was sich, wenn besondere Gründe nicht dagegen sprechen, in einer Probe machen läßt, indem man beim Uebersetzen mit einem Kahn gleiche Teile von jeder der drei Stellen mischt und daraus eine Aussaat macht. Bei Entnahmen an verschiedenen Punkten eines Flußlaufs sind die Wasserstandsverhältnisse, sowie die Zeit zu berücksichtigen, die das Wasser braucht, um von einem Punkte zum anderen zu kommen; bei Hochwasser werden kürzere Fristen zwischen den Entnahmen liegen müssen als bei Mittel- und Niederwasser; die durchschnittliche Geschwindigkeit des Flusses bei den verschiedenen Pegelständen ist von der zuständigen Behörde zu erfahren und danach die Zeit für die Entnahmen oberhalb und unterhalb zu berechnen und einzurichten.

Fig. 220.

Stauungen im Flußlauf trüben das einheitliche Bild; soweit sie ihren Einfluß ausüben, ist das Wasser keimreicher.

Schöpfgefäße. Einfach und handlich sind Medizinflaschen von etwa 100 cm Inhalt, die mit etwas mehr als 100 g Schroten gefüllt und mit Wattestopfen versehen, sterilisiert worden sind. Sie werden an einem Bindfaden befestigt eingeworfen, nachdem zuvor der Wattestopfen abgenommen worden ist. Beim Herausziehen ist Aufwirbelung von Erdreich u. dergl. zu vermeiden. Besser ist es, von einer Brücke aus oder mit Hilfe eines über den Fluß gezogenen Leitseils zu schöpfen.

Aus bestimmten Tiefen kann nur mit Flaschen entnommen werden, deren Verschluß dort geöffnet wird. Es sind viele angegeben worden; eine Beschreibung verschiedener findet sich unter anderen bei: Schuhmacher, Ges. Ing. 04. 418; E. Meyer, C. 32. 845; M. Otto und R. O. Neumann, C. II. 13. 481. Für einzelne Fälle muß man das Einfachste nehmen, was man selbst improvisieren kann. In der Fig. 220 ist eine Anordnung wiedergegeben, die der von A. Sclavo (r. C. 15. 507) nachgebildet und für einen nicht sehr tiefen Flußlauf von P. Schwenzer in meinem Institut zusammengestellt worden ist: Ein gewöhnliches Reagenzglas ist in einen kapillar endigenden abgeschmolzenen Schnabel ausgezogen und durch die Erhitzung teilweise luftleer gemacht worden. Mit dem an der Spitze befestigten Faden wird diese abgerissen, sobald das Reagenzglas in der gewünschten Tiefe, die an der Stange und an dem sie tragenden Draht markiert wurde, angelangt ist.

Die Aussaat ist stets unmittelbar an die Entnahme anzuschließen. Denn in der geschöpften Probe vermehren sich die Keime in unkontrollierbarer Weise, manche können schon innerhalb $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde eine neue Generation liefern, und in der Flasche sind die Verhältnisse für die Vermehrung ganz andere als unter den natürlichen Bedingungen. Eingesandte Wässer sind zur Mengenbestimmung der im natürlichen Wasser vorhandenen Keime schlechterdings unbrauchbar.

Digitized by Google

Zur Vermeidung der Reise hat Schumburg Kulturfläschchen angegeben, die mit einem eingeschliffenen, innen hohlen Glasstopfen verschlossen sind. Die Höhlung des Stopfens faßt 1 ccm Wasser. Die Fläschchen werden mit etwa 10 ccm Nährgelatine versehen im Dampf sterilisiert und in einem mit Filz ausgekleideten Holzkoffer versandt. Während der Sterilisierung ist der Stopfen zu lüften oder durch Watte zu ersetzen, sonst wird er beim Erkalten zu fest eingezogen, und das dünnwandige Fläschchen kann vom äußeren Luftdruck eingedrückt werden. Der Empfänger erhält die Anweisung, die Fläschchen im Wasserbade bei 30 bis 35° unter Zuhilfenahme eines beigegebenen Thermometers zu halten, bis die Gelatine flüssig geworden ist, dann den Glasstopfen mit dem fraglichen Wasser zu füllen, ihn vorsichtig ins Kulturfläschchen zu entleeren und fest aufzusetzen; hierauf außen leicht anzuklopfen, den Inhalt vorsichtig zu mischen, in wagrechter Lage erstarren zu lassen und sämtliche Sachen im Koffer allenfalls unter Beigabe einer Eisblase zurückzusenden (DmW. 97. 471).

Das Verfahren kann bloß zur vorläufigen Orientierung über einen zu erwartenden Keimgehalt und bei ganz zuverlässigem Personal zu periodischen Keimprüfungen einer entfernten, im ganzen und großen bereits bekannten Wasserstelle, um kostspielige wiederholte Reisen zu vermeiden, Anwendung finden. Zur Beurteilung unbekannter Verhältnisse an einem Ort muß ohnehin ein Sachverständiger kommen.

Bei Flußwasseruntersuchungen sehe man zu, daß die Aussaaten am Land gemacht werden können; denn die Schwankungen des Kahns oder die Erschütterungen eines kleinen Dampfboots sind für die gerade Erstarrung des Nährbodens in den Schälchen sehr störend.

Bei voraussichtlich stärker verunreinigtem Wasser sind Verdünnungen anzulegen. Man sehe sich mit einer genügenden Anzahl Fläschchen vor, die ungefähr 90 ccm steriles destilliertes Wasser enthalten, gebe am Entnahmeort je nach der mutmaßlichen Stärke der Verunreinigung, die man durch einige orientierende Aussaaten erfahren hat, 10 oder 5 oder nur 1 ccm Wasser hinein und säe davon nach guter Vermischung 1 ccm aus. Es darf nicht mehr Flüssigkeit als dieser 1 ccm herausgenommen werden; die Fläschchen verschließt man dann gut und nimmt sie mit ins Laboratorium, wo ihr Inhalt genau festgestellt wird. Zu der ermittelten Menge wird 1 g addiert und schließlich die gefundene Keimzahl auf 1 ccm unverdünnten Wassers berechnet.

Die **Ausrüstung** zur Entnahme und Aussaat an Ort und Stelle zeigen Fig. 221 und 222. Es ist dabei auf eine selbst zu betätigende Zusammenstellung Rücksicht genommen und darauf, daß man die nötigen Dinge in einem Koffer oder einer Kiste verpackt von einem Gehilfen mitnehmen läßt. Im Handel sind eigens gefertigte Ausrüstungen zu haben, ähnlich wie sie für amtliche Expeditionen bei der Armee oder von einschlägigen Behörden gebraucht werden.

Bisher fehlten dabei die in Fig. 222 dargestellten beiden Apparate, die außerhalb des Instituts und insbesondere im Freien kaum zu entbehren sind, nämlich ein Wärme- und ein Kühlapparat.

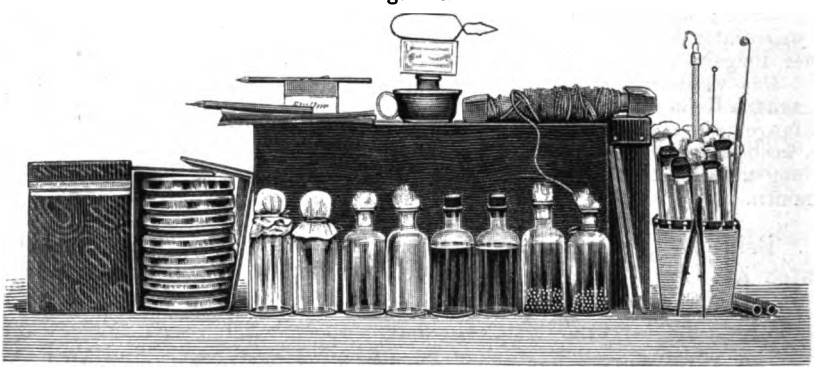
Der Thermophor. Vor der Abfahrt wird das innere doppelwandige Blechgefäß für etwa 10 Minuten bezw. die seitens der Fabrik vorgeschriebene Zeit in heißes Wasser gestellt. Dadurch schmilzt das in der Doppelwand eingeschlossene essigsaure Natron und gibt, eingestellt in das größere, wärmehaltende Gefäß, beim langsamen Kristallisieren seine Wärme hauptsächlich nach innen ab, so daß noch nach mehreren Stunden Gelatine durch Einstellen ins Innere rasch ver-

Digitized by Google

flüssigt werden kann; Agar oder Agarmischungen müssen vorher im siedenden Wasser verflüssigt werden, halten sich aber dann im Thermophor stundenlang flüssig. Auf diese Weise erspart man viel Aerger; denn der Wind ist bei dem Bemühen, die Nährböden über einer Flamme zu verflüssigen, sehr hinderlich.

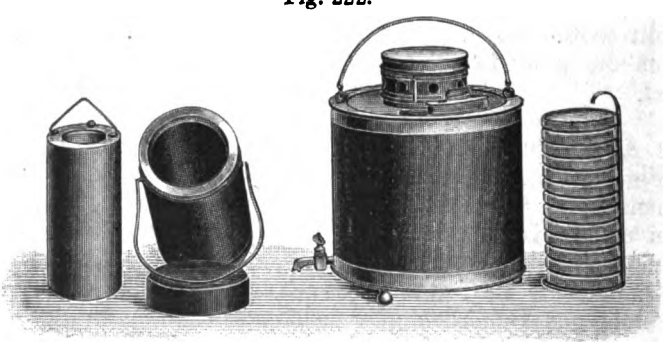
Der Eiskühler nach F. Král (Prager med. Wchschr. 91. 481). Die in Fig. 222 rechts befindlichen Schälchen werden mit ihrem Gestell

Fig. 221.



in den ventilierbaren Turm eingestellt; die breite ihn umgebende Doppelwand wird mit Eisstücken und Kochsalz durch zwei Oeffnungen gefüllt, von denen die eine oben vorn zu sehen ist; das Deckelchen ist teilweise abgehoben. Das entstehende Schmelzwasser kann durch das unten befindliche Hähnchen abgelassen werden. Der Apparat leistet

Fig. 222.



nicht bloß im Sommer gute Dienste, er ist auch im Winter zu gebrauchen, denn im warmen Eisenbahnwagen ist der Gelatineguß gefährdet.

Außerdem nehmen wir noch eine kleine Schiefertafel und eine Libelle mit, um die Nährböden in gleichmäßig dicker Schicht wagrecht erstarren zu lassen. Im übrigen zeigt die Fig. 221 folgende Ausrüstungsgegenstände:

Eine Anzahl Petrischälchen, die zusammen in eine Schachtel gestellt werden; mehrere Entnahmefläschchen (Medizinfläschchen von 100 ccm Inhalt), die teils leer, teils mit Schrot beschwert, teils mit

Digitized by Google

Wasser nicht völlig angefüllt und sämtlich sterilisiert sind; dazu Bindfaden um eine Rolle gewickelt, zum Hinablassen. Eine Büchse mit Wasserpipetten (1 ccm geteilt in 10 Teile), Reagenzgläschen mit Nährböden und leere sterile nebst Einsatzgefäß, Thermometer, Platinösen, Pinzetten (gewöhnliche und Cornetsche), eine Spirituslampe (für Arbeiten im Freien mit Windschutz), Bleistifte, Papier und Etiketten. Die Anzahl der Reagenzröhrchen, Flaschen und Kulturschälchen muß für die in Aussicht genommene Zahl der Proben reichlich bemessen sein.

Wahl des Nährbodens. Die Fleischwasserpeptongelatine, in der üblichen Weise (s. S. 90) bereitet, ist seit der Einführung der bakteriologischen Wasseruntersuchung durch R. Koch benutzt und am meisten gebraucht worden, obgleich sich andere Zusammensetzungen für das reichliche Gedeihen von Wasserbakterien geeigneter erwiesen haben. Sie hat sowohl wegen der nicht immer gleichmäßigen Beschaffenheit des Fleischwassers Beanstandung erfahren, als insbesondere deshalb, weil sie viele Wasserkeime nicht zur Entwicklung gelangen läßt und von den verflüssigenden Kolonien in ihrem Bestande gefährdet ist. Mehr Wasserkeime bringt z. B. eine Peptonwassergelatine (Nr. V der folgenden Tabelle) zum Vorschein. Es sind verschiedene Nährböden angegeben worden; welcher der geeignetste sei, darüber sind die Meinungen geteilt. Eine Einigung auf einen bestimmten ist trotz der in den „Grundsätzen für die Reinigung von Oberflächenwasser durch Sandfiltration zuzeiten der Choleragefahr" von Reichs wegen unter dem 2. II. 99 gegebenen Vorschrift (KGA. Veröff. 99. 107; s. die folgende Tabelle Nr. II) noch nicht erzielt worden.

Mit den von den verschiedenen Seiten vorgeschlagenen Zusammensetzungen hat G. Schütz in meinem Institut gelegentlich seiner Untersuchungen über den Reinlichkeitszustand natürlicher und künstlicher Mineralwässer vergleichende Untersuchungen angestellt und selbst eine Kombination gemacht und geprüft. Hinsichtlich seiner Darlegungen und kritischen Bemerkungen über die einzelnen Nährböden muß ich auf die Dissertation (Erlangen 05) verweisen; hier sei nur die tabellarische Uebersicht über 11 geprüfte Zusammensetzungen von Nährböden für Wasseraussaaten gegeben:

Nummer	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Autor	KGA.	Reichs-Vorschr.	Thomann	Abba				Hesse-Niedner	Prall	Prall	Schütz
Gelatine	10	10	10	15	10	—	—	—	5	5	5
Agar	—	—	—	—	—	1,5	1,5	1,25	0,75	0,75	0,75
Wasser	—	—	100	100	100	—	100	100	100	100	100
Fleischwasser	100	—	—	—	—	100	—	—	—	—	—
Fleischextrakt	—	1	0,6	0,6	—	—	—	—	—	—	—
Pepton	1	1	1	—	1	1	1	—	—	1	1
Kochsalz	0,5	0,5	0,5	—	0,5	0,5	0,5	—	—	0,5	—
Phosphat	—	—	0,2	—	—	—	—	—	—	—	—
Albumose	—	—	—	—	—	—	—	0,75	0,75	—	—
Reaktion	alk.	alk.	alk.	alk.	alk.	alk.	alk.	neutr.	neutr.	alk.	neutr.

Digitized by Google

Die höchste Keimzahl aus gleichen Aussaaten erhielt G. Schütz bei Verwendung von Nr. XI und Nr. VIII, demnächst von Nr. IX; die anderen blieben mehr oder weniger an Leistungsfähigkeit zurück. Ein Vergleich von Nr. I und V einerseits, Nr. VI und VII anderseits ergab, daß die Agargallerte an sich den Wasserkeimen weniger günstige Bedingungen bietet als eine Gelatinelösung. Gelatine allein zuzusetzen, wie bei Nr. I mit V geschehen, hat den Nachteil, daß bei Anwesenheit vieler oder auch nur einiger, aber stark verflüssigender Ansiedlungen die Kultur unter Umständen schon zu einer Zeit unterbrochen werden muß, wo noch nicht alle entwicklungsfähigen Keime erschienen sind. Agar allein, wie bei Nr. VI mit VIII, gestattet, der Entwicklung der Keime so lange als nötig (7 bis 10 Tage) Zeit zu geben, aber die vom Agar ausgepreßte Feuchtigkeit veranlaßt oft eine unerwünschte Wucherung auf der Oberfläche des Nährbodens oder an seiner Unterseite zwischen ihm und dem Schälchenboden, so daß von einer einzelnen Ansiedlung Tochterkolonien ausgehen, bei denen man schließlich nicht mehr sicher entscheiden kann, ob sie miteingezählt werden dürfen oder nicht. Gelatine und Agar zugemischt, wie in Nr. IX mit XI, vermeidet diesen Fehler, die aufgegangenen Arten zeigen hinreichend charakteristisches Aussehen, insbesondere erscheinen noch peptonisierende Keime mit ihrer Verflüssigungszone, ohne daß sich diese zu sehr breit macht und die Gallerte in zu weiter Ausdehnung zerstört.

J. Thomann hielt einen Zusatz von Phosphat nötig, weil sonst die Farbstoffbildung der fluoreszierenden Bakterien ausbleibe (C. II. 6. 796). Wir haben, um dies zu prüfen, Peptonwassergelatine sowohl mit sekundärem als auch mit tertiärem Phosphat bereitet und darauf einen frisch mit Hilfe von Fleischwasserpeptongelatine aus Leitungswasser gezüchteten Bac. fluorescens liquef., der gut Farbstoff bildete, ausgesät; er wuchs auf beiden Nährböden völlig farblos und zeigte bei sekundärem Phosphat die stärkste Verflüssigung; ein verflüssigender Bazillus mit gelbbraunem Farbstoff ist bei diesen Versuchen von H. Mehler aus Erlanger Leitungswasser durch Verwendung von alkalisierter Peptonwassergelatine isoliert worden; er bildete seinen Farbstoff außerdem nur noch auf neutraler Peptonwassergelatine gut, aber nicht auf Fleischwassergelatine und schwächer auf Peptonwassergelatine mit Zusatz von sekundärem oder tertiärem Phosphat. Daraus geht hervor, daß sich die beiden Farbstoffbildner auf den einzelnen Substraten verschieden verhalten, daß aber Phosphatzusatz bei beiden Bakterienarten keine Begünstigung, im Gegenteil eine Schädigung des Farbstoffbildungsvermögens bewirkt hat.

Die neutrale Gelatineagarpeptonlösung wäre somit der empfehlenswerteste Nährboden. Die Nachteile, die ihm anhaften, bestehen in der Erschwernis der Anwendung, weil man ihn im kochenden Wasser verflüssigen und dann warten muß, bis er auf etwa 40° abgekühlt ist, und weil er in Schälchen gegossen ein geringeres Haftungsvermögen am Glase hat als die Gelatine allein, so daß man bei Verwendung außerhalb des Laboratoriums besondere Vorsicht walten lassen muß. Man braucht Schalen, deren Wände in möglichst scharfem rechten Winkel zum Boden übergehen, man muß der Gallerte genügend lange Zeit zur Erstarrung geben und die gegossenen Platten auf dem Transport (insbesondere im Wagen auf der Landstraße) sehr sorgfältig wagrecht halten, damit die Schicht nicht nachträglich abrutscht.

Diese Momente können bei allen Untersuchungen, bei denen man im Freien fern von einer Wohnung zu arbeiten gezwungen ist, Aerger und Schaden bereiten und behindern meines Erachtens eine allgemeine Einführung des agarhaltigen Nährbodens. Im Interesse der Vergleichung verschiedener Untersuchungsergebnisse ist es unbedingt nötig, daß ein wenigstens annähernd gleiches Nährsubstrat zur Verwendung kommt. Den bisherigen Geflogenheiten zufolge hat man ein solches am einfachsten in der üblichen Nährgelatine. Mag sie auch weniger Keime in die Erscheinung treten lassen, der Fehler wird dann immer derselbe bleiben und sämtliche Keime gehen bekanntlich auf keinem Nährsub-

Digitized by Google

strat, auch nicht auf dem mit Agar der bezeichneten Zusammensetzung an. Der hauptsächlichste Grund, warum man Bedenken trug, Gelatine anzuwenden, lag darin, daß wegen der verflüssigenden Keime die Züchtung ungehörig bald unterbrochen werden mußte. Dieser Umstand ist mit der sogenannten Abstiftung (s. S. 483) weggefallen. Wir verwenden daher als einfachsten und handlichsten Nährboden nach wie vor die **Fleischwasserpeptongelatine.**

Die **Aussaat** hat der Entnahme unmittelbar zu folgen. Von voraussichtlich nicht sehr verunreinigtem Wasser nimmt man 1 ccm, von verunreinigterem macht man Verdünnungen mit sterilisiertem Wasser.

Die Abmessung geschieht mit sogenannten Wasserpipetten, das sind etwa 18 cm lange Glasröhrchen mit Ausflußspitze, eng im Lichten, damit die Teilung (1 ccm in $^1/_{10}$ Teile) nicht zu klein wird. Es sind keine Auslaufpipetten; man muß jedesmal genau acht geben und darf keine Spur mehr auslaufen lassen, wenn die Flüssigkeit mit ihrem Meniskus am untersten Teilstrich angelangt ist. Die Pipetten werden in größerer Zahl zusammen in Blechbüchsen trocken bei 160 bis 180° sterilisiert. Bei der Herausnahme aus der Büchse sind dieselben Vorsichtsmaßregeln zu beachten wie bei Platten (s. Fig. 117 und 118 auf S. 116). Die Füllung der Pipetten kann durch Ansaugen erfolgen, einfacher ist es, wenn sich die auszusäende Flüssigkeit in einem Fläschchen oder Reagenzröhrchen befindet, so daß die Pipette mit ihrem oberen Teilstrich womöglich noch unter Wasser taucht; dann füllt sie sich von selbst, und man hat bloß darauf zu achten, daß vor der Aussaat äußerlich alle Tropfen abgelaufen sind, damit keiner mehr zur Aussaat gelangt als abgemessen wird. Schäumende, z. B. kohlensaure Flüssigkeiten, muß man im Röhrchen einige Minuten stehen lassen, am besten kühl, bis keine Gasblasen mehr aufsteigen.

Für Bruchteile eines Kubikzentimeters sind an den Pipetten Zehntelteilstriche angebracht. Es wird genauer sein, wenn man erst einmal ausprobiert, wieviel die betreffende Pipette Tropfen auf 1 ccm liefert. Hat man z. B. 27 gefunden, so sät man für $^1/_2$ ccm 13 Tropfen aus und etikettiert, berechnet auch schließlich $^{13}/_{27}$ ccm. Weniger als $^1/_4$ ccm sollen nicht ausgesät werden, sonst werden die Fehler zu groß. Voraussichtlich keimreichere Wässer verdünne man lieber, dadurch ist es möglich, $^1/_{100}$ ccm und weniger zur Aussaat zu bringen.

Für Verdünnungen führt man Fläschchen mit sterilem Wasser (Fig. 221) mit. Dieses Wasser soll nach W. Hesse und Niedner (ZfH. 29. 456) auf 30° vorgewärmt sein, weil dabei die Mischung der Keime gleichmäßiger erfolgt. Die Menge des sterilen Wassers ist zunächst gleichgültig; sie sei annähernd 80 bis 100 ccm. Da hinein gibt man 1, 2 oder 5 ccm. Mehr würde, da man größere sterile Pipetten selten vorrätig hat, zu umständlich sein. Lieber gieße man, wenn die Verdünnungen nicht so stark sein sollen (denn die Fehler werden entsprechend vergrößert), vorher vom sterilen Wasser etwa die Hälfte ab und gebe 1 ccm des zu untersuchenden Wassers hinein, mische gut und entnehme mit einer anderen sterilen Pipette 1 ccm zur Eintropfung ins Kulturschälchen. Dann muß man selbstverständlich das Mischfläschchen, von dessen Inhalt kein Tropfen verloren gehen darf, gut mit dem

Digitized by Google

Gummistopfen schließen und wieder mit ins Laboratorium nehmen, wo die Menge des Inhalts durch Wägen unter Abzug der Tara des Fläschchens oder durch Ausgießen in einen passenden Meßzylinder ermittelt wird (1 ccm ist für die zur Aussaat gebrachte Menge zu addieren). Würde man die Feststellung des Inhalts versäumen, so wäre die ganze Expedition umsonst gewesen. Man kann sich dadurch, daß man vor dem Auszug das Gewicht des Fläschchens samt Inhalt aufschreibt, vor einem Mißerfolg durch Unachtsamkeit schützen.

Die Aussaat erfolge immer in der Art, daß man die betreffende Menge Wasser, 1 ccm oder Bruchteile davon, erst in Kulturschälchen gibt und dann die Nährlösung darüber gießt. Die Methode rührt von B. Fischer her; ursprünglich, als man noch mit Platten arbeitete, mußte man die Vermischung im Reagenzglase vornehmen und dann erst ausgießen, wobei mit dem Rest der Gelatine Keime im Röhrchen zurückblieben. Die mit dem betreffenden Wasser bis zur oberen Marke gefüllte sterilisierte Pipette hält man oben mit der trockenen Zeigefingerbeere zu, bringt sie in Augenhöhe und sieht zu, daß die Flüssigkeit mit ihrem Meniskus auf dem Nullstrich einsteht (s. S. 26). Mit der anderen Hand nimmt man von dem bereitstehenden sterilen Schälchen den Deckel ab, legt ihn zur Seite, bringt das Schälchen unter die Pipette und verteilt den 1 ccm tropfenweise auf seinem Boden. Ich wiederhole: Man hat keine Auslaufpipette, sondern muß achtgeben, wann der Teilstrich 1 ccm erreicht ist. Alsdann gebe man die Pipette in das Entnahmeglas zurück, stelle das Schälchen auf den Tisch und decke alsbald den Deckel darauf.

Hierauf nehme man ein Röhrchen mit verflüssigtem Nährmaterial aus der Wärme (dem Wasserbad von 40° oder dem Thermophor), drehe den Wattestopfen heraus, senge die Wattereste in der Flamme ab und gieße den Inhalt ins Schälchen, indem man jetzt nur den Deckel so weit lüftet, daß das Reagenzglasende daruntergeführt und ausgegossen werden kann. Nun fasse man die geschlossene Kulturschale, vermische die Wassertropfen durch Hinundherneigen gründlich mit dem Nährmittel, aber ohne soweit zu neigen, daß der Schalendeckel benetzt wird, wodurch unkontrollierbar viele Keime zu Verlust gehen würden, und stelle schließlich das Schälchen auf eine ebene Fläche, einen Gießapparat (S. 115) oder eine ausnivellierte Schiefertafel oder dergl. Die Kulturen müssen vor längerer Lichteinwirkung geschützt werden.

Züchtung. Wasserbakterien gedeihen am besten bei Zimmerwärme. Um auch etwas anspruchsvolleren zu genügen, soll man bei etwa 20 bis 22° züchten. In größeren Instituten hat man dazu einen besonderen Brütschrank (s. S. 140).

Die Dauer der Züchtung soll 7 bis 10 Tage betragen. Wenn Brütschrankwärme von 20 bis 22° angewendet worden ist, genügen 7 Tage. Nach dieser Zeit entwickeln sich erfahrungsgemäß neue Ansiedlungen nicht mehr. Recht störend kann bei Gelatine das Auftreten von verflüssigenden Keimen werden, deren Kolonien sich bei den einen weniger, bei den anderen rascher und mehr ausbreiten und nicht allein die benachbarten Ansiedlungen, sondern selbst den ganzen Nährboden vor der Zeit, oft schon am 1. und 2. Tage, in seinem Bestand gefährden.

Digitized by Google

Abstiftung. Dieser Mißlichkeit läßt sich mit der von L. Hiltner und K. Störmer (s. S. 501) eingeführten Abstiftung wirksam vorbeugen. Sie besteht darin, daß man mit einem Höllensteinstift, der in bekannter Weise in einen Hartgummihalter geklemmt ist, über die Kolonie streicht. In dem chloridhaltigen Nährboden entsteht dann ein weißer, am Lichte sich bräunender Chlorsilberring, der bei Gelatine nicht größer wird als die Berührungsstelle ist.

Die Behandlung mit Silbernitrat muß erfolgen, sobald man sieht, daß eine verflüssigende Kolonie auftaucht, und muß sich auf jede solche Ansiedlung erstrecken. Man besichtige demzufolge die Platten schon in weniger als 24 Stunden und wiederhole die Nachschau und allenfallsige Stiftbehandlung am Morgen und Abend jedes der nächsten Tage. Nach einigen Tagen braucht man den Stift immer seltener. Er dient für die Folge auch dazu, um etwaige Luftverunreinigungen, insbesondere Schimmelpilzkolonien, die beim öfteren Offenbleiben des Schälchens hineingeraten sind, in ihren ersten Anfängen zu unterdrücken.

Bei der Abstiftung hüte man sich, andere, nicht bedrohliche Kolonien zu schädigen. Will man den Höllenstein nur auf eine kleine Stelle wirken lassen, dann nehme man die mit geschmolzenem Silbernitrat überzogene Spitze einer Platinnadel. Man gibt etwas Silbernitrat in ein Reagenzglas, verflüssigt es darin über der Flamme und taucht den Draht ein. Sollte sich das Silberklümpchen beim Erkalten zu dick oder zu weit nach hinten liegend zeigen, braucht man den Platindraht nur kurz in der Flamme zu erwärmen und das geschmolzene Silbersalz nach der Spitze hin laufen zu lassen, wo es bald erstarrt. Ein zum Häkchen gebogener Draht, derartig behandelt, eignet sich zur Abstiftung von Kolonien in Flaschenkulturen, z. B. bei Aussaaten in Schumburgschen und ähnlichen Fläschchen.

Jede Kolonie, die abgestiftet wird, muß vorher mikroskopisch bei schwacher Vergrößerung betrachtet werden. Bei vorhandenem Interesse impfe man zur Reinkultur ab und lege ein gefärbtes Präparat an. In jedem Falle wird sie im Protokoll notiert. Nach 7 bis 10 Tagen zähle man die Schale aus oder unterbreche wenigstens die Züchtung durch Formalinisierung. Ehe dies geschieht, mustere man die Platten bei schwacher Vergrößerung durch, ob nicht gewisse Ansiedlungen der Abimpfung wert erscheinen, etwa wegen ihrer Aehnlichkeit mit solchen der Koligruppe oder ihres Farb- oder Schleimbildungsvermögens halber oder sonst aus einem Grunde.

Die **Unterbrechung** der Züchtung geschieht durch Formalinisierung. Man nimmt eine runde Scheibe Filtrierpapier, deren Durchmesser den des Schalendeckels um etwa 1 cm überragt, legt sie auf die Kulturschale, stülpt den Deckel darüber und preßt so das Papier in ihn hinein. Beim folgenden Abnehmen des Deckels geht das Papier mit. Man träufelt dann mehrere Tropfen Formalin darauf und deckt damit die Kulturschale wieder zu.

Tag und Stunde der Formalinisierung muß notiert werden! Nunmehr kann man die Auszählung auf eine beliebige passende Stunde verschieben. Unter dem Einflusse des Formalins sammeln sich mitunter klare Wassertropfen auf der Oberfläche des Nährbodens an, die den

Digitized by Google

Zählenden bei einiger Uebung nicht stören werden, durch nicht zu langes Wirkenlassen des Formaldehyds aber zu vermeiden sind.

Zählung. Die mikroskopische Zählung ist die einzige zuverlässige. Alle mit bloßem Auge und selbst mit einer Lupe angestellten Untersuchungen, zu deren Ausführung früher der Wolffhügelsche Zählapparat viel gebraucht wurde und auch jetzt noch in Anwendung zu sein scheint, sind vollkommen unzulänglich. Nur mit dem Mikroskop vermag man zu entscheiden, ob eine auch bei Lupenbetrachtung als Pünktchen erscheinende Ansiedlung nicht aus 2 oder mehreren Kolonien besteht, ganz abgesehen davon, daß sogar nach 7- bis 10tägiger Züchtung einige noch so klein sein können, daß sie erst mit dem Mikroskop richtig zu erkennen sind. Eine Kolonie mehr oder weniger macht zwar bei Vollaussaaten von 1 ccm nicht viel aus, wenn aber Verdünnungen, z. B. mit 1 ccm Rohwasser in 99 ccm sterilem Wasser angelegt worden sind, zählt jede Kolonie für hundert.

Je nach der Dichtigkeit der Besäung kommen 3 Arten zur Anwendung: die Zählung jeder einzelnen Kolonie, d. i. die Gesamtauszählung der Platte, oder die Auszählung mehrerer ganzer Gesichtsfelder, oder die von Gesichtsfeldteilen. Die Anwendung der Gesamtauszählung begrenzt sich bei etwa 1000 bis 1500 Kolonien, die bei einiger Uebung vorher abgeschätzt werden können; G. Schütz hat sogar noch bis 15000 einzeln ausgezählt. Dazu braucht man etwa $^3/_4$ Stunden. Bei mehr zählt man nach einzelnen Gesichtsfeldern; wenn das aber wegen Vorhandenseins zu reichlicher Ansiedlungen nicht mehr leicht gemacht werden kann, nimmt man nur Bruchteile von ihnen.

1. Die Gesamtauszählung nach L. Heim, modifiziert von G. Schütz: Auf der Unterseite der Kulturschale werden mit chinesischer Tusche und Lineal parallele Linien gezogen, deren Abstand sich nach der zu verwendenden Linsenkombination bemißt, d. h. sie werden so weit voneinander entfernt angelegt, daß je zwei Linien eben noch gleichzeitig im Gesichtsfeld erscheinen, also je nachdem entweder $2^1/_2$ bis 3 oder $5^1/_2$ bis 6 mm bei nachstehenden Kombinationen Leitzscher Systeme:

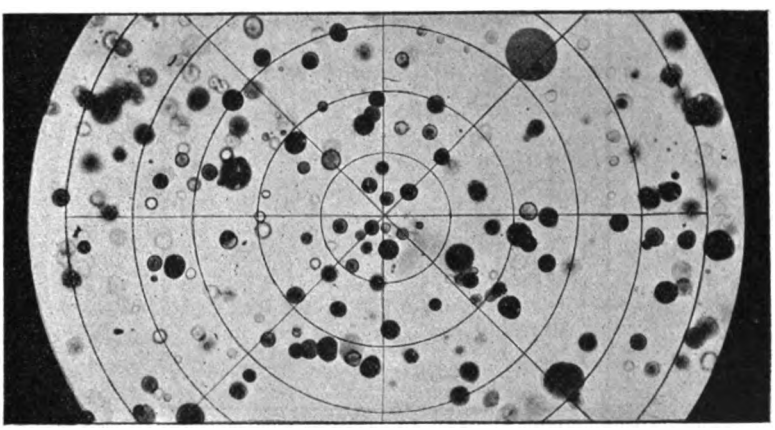
	Objektiv 1	Vergrößerung etwa	Objektiv 2	Vergrößerung etwa
Okular 1	6,7 mm	18mal	3,3 mm	33mal
Okular 3	5,7 mm	26mal	2,8 mm	50mal

Den an die Reihe kommenden Streifen bezeichnet man am äußersten Ende mit einem Pünktchen als Marke, wo die Zählung beginnen soll, und zieht ihn unter fortwährender Auf- und Abwärtsbewegung des Tubus (um auch etwa tiefer gelegene Kolonien nicht zu übersehen) allmählich unter dem Gesichtsfeld durch, indem man jede einzelne Kolonie zählt. Ist man mit dem Streifen fertig, dann macht man an seinem Ende auf der Unterseite der Schale mit Tusche ein Kreuz zum Zeichen der Erledigung und notiert den gefundenen Wert. Kolonien, die auf eine Tuschlinie gefallen sind, werden nur berücksichtigt, wenn sie mit ihrem größeren Teil in den jeweils besichtigten Streifen fallen, oder man setzt sich die Regel, immer nur die Ansiedlungen, die z. B. auf der oberen Linie liegen, mitzuzählen.

Digitized by Google

2. Die Auszählung nach Gesichtsfeldern. Auf der Unterseite der Schale werden möglichst in gleichen Abständen und unparteiisch 30 Pünktchen mit Tusche angebracht, die später der Reihe nach in die Mitte des Gesichtsfeldes eingestellt werden. 30 Gesichtsfelder hat M. Neißer als die Menge ermittelt, bei der man bei einer Kolonienzahl von 1500 und darüber höchstens einen Fehler von — 1/8 oder + 1/7 macht (AfH. 20. 119). Nach der Auszählung wird auf den betreffenden Punkt mit Tusche ein Kreuz gemacht und das Ergebnis notiert; schließlich wird addiert und das Mittel gezogen. Man weiß nun, wieviel ein Gesichtsfeld durchschnittlich Kolonien enthält und braucht nur noch zu bestimmen, wieviel Gesichtsfelder auf die ganze Platte gehen. Diese Zahl findet man durch Division von d^2 in D^2; d ist der Durchmesser des Gesichtsfelds, ermittelt mit Hilfe eines

Fig. 223.



Objektmikrometers (s. S. 9 und 486), D der Durchmesser des Kulturschälchens, gemessen mit einem aufgelegten Millimeterstab.

3. Die Auszählung nach Gesichtsfeldteilen geschieht genau so wie die vorige, nur zählt man eben bloß die in einem bestimmten Teil eines Gesichtsfelds fallenden Ansiedlungen. Dazu eignet sich die Okularzählscheibe nach L. Heim, die man in ein besonderes Okular, dessen Augenlinse behufs scharfer Einstellung der Teilung für das Auge des Beobachters ausziehbar gemacht ist, vom Fabrikanten einfügen läßt; ich habe teils der allgemeinen Verwendbarkeit halber, teils zur Auseinanderhaltung von den gewöhnlich benutzten Okularen (1 und 3) das Okular 2 gewählt. Die Kreise und Strichkreuze der Teilung zeigt Fig. 4, S. 10. Je nach der dichten Besäung der Platte wählt man den innersten oder einen der äußeren Kreise, deren Durchmesser mit Hilfe des Objektmikrometers ausgemessen wird. Die Strichkreuze gewähren dem Auge Anhaltspunkte, so daß es nicht leicht vorkommen kann, daß eine Kolonie doppelt gezählt wird, zumal wenn man sich zum Grundsatz macht, in der Richtung des Uhrzeigers vorzugehen.

Als Beispiel diene die Fig. 223. Sie ist mit dem Trockensystem Leitz 2 und mit der Zählscheibe im Leitzschen Okular 2

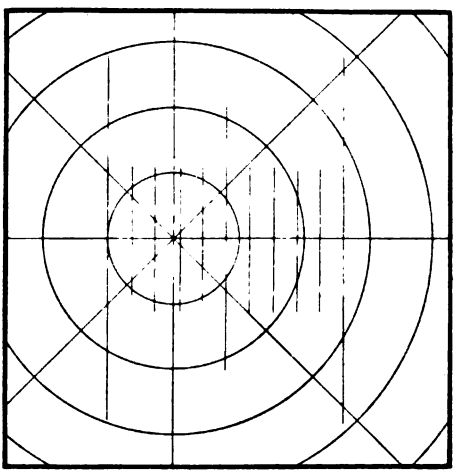
Digitized by Google

aufgenommen. Gesetzt, wir hätten uns entschlossen, nur den innersten Kreis auszuzählen. Dieser enthält (einschließlich der nicht genau fokussierten Kolonien) 15 Ansiedlungen. Nehmen wir an, gerade diese Zahl entspräche dem Mittel (m) aus 30 solchen Teilgesichtsfeldern von verschiedenen willkürlich gewählten Stellen der Platte.

Fig. 224 ist aufgenommen, indem anstatt der Kulturplatte ein Objektmikrometer, auf dem 1 mm in Zehntelteile geteilt ist (s. S. 9), unter das Objektiv 2 gebracht und mit Okular 2, das die Zählscheibe trägt, bei gleicher Kameralänge mikrophotographiert wurde. Aus ihr erkennt man, daß der innerste Kreis 0,56 mm im Durchmesser hat*).

Einer makroskopischen Messung zufolge betrug der Durchmesser

Fig. 224.



der Kulturschale 89 mm. Daraus ergibt sich folgender Ansatz für die Berechnung der Gesamtzahl (x) der Kolonien auf der Platte:

$$x = \frac{D^2}{d^2} \cdot m = \frac{89^2}{0{,}56^2} \cdot 15 = 25258 \cdot 15 = 378870$$

Da bloß ½ ccm Schmutzwasser zur Aussaat gebracht worden war, berechnet sich die Keimzahl auf 757740 oder rund 760000 Keime in 1 ccm.

Auf diese Weise kann man ohne besondere Mühe in wenigen Minuten Keimzahlen bis in die Hunderttausende, selbst bis zu Millionen bestimmen. Da man stets dieselbe Linsenkombination, dieselbe Zählscheibe und den gleichen Tubusauszug verwendet, läßt sich die Rechnung vereinfachen, wenn man ein für allemal für die üblichen Schälchengrößen (etwa 88 bis 92 mm) die Zahl der Teilgesichtsfelder, die sie enthalten, berechnet hat. Im einzelnen Fall ist dann die für die je-

*) Aus der Fig. 224 kann man außerdem die Vergrößerung bemessen, bei der die Kolonien der Fig. 223 aufgenommen worden sind. Ein Millimetermaßstab auf die 11 Teilstriche gelegt, zeigt, daß dieser in Wirklichkeit 1 mm große Raum 31 mm mißt; sie ist also 31fach gewesen. Durch solche Nachmessungen eines vergrößerten Maßstabes auf der Mattscheibe pflegt man die Vergrößerungen bei der Mikrophotographie zu bestimmen.

Digitized by Google

weilige Platte gültige Zahl mit dem Mittelwert m für die Kolonien aus 30 Teilgesichtsfeldern zu multiplizieren.

Die Fehler werden bei dieser Berechnung nicht groß; jedenfalls ist es besser, es wird die Keimzahl auch nur annähernd angegeben, als daß man auf die Bestimmung verzichtet und das Ergebnis als ∞ oder als unzählbar ins Protokoll einträgt.

Eine andere Frage ist, ob bei sehr dichter Besäung nicht zu viel Keime erstickt werden. Dies ist ein viel wahrscheinlicherer Fehler, der umso größer sein wird, je größer die Wachstumsgeschwindigkeit und die gegenseitige Hemmung der betreffenden Bakterien ist. Man vermeide deshalb, wenn irgend angängig, zu dichte Besäung durch vorgängige Verdünnung des Aussaatmaterials.

Die Artbestimmung von Keimen im Wasser.

Mit der Zählung der angegangenen Kolonien gibt man sich gewöhnlich zufrieden. Früher hat man noch besonders bemerkt, wieviel verflüssigende darunter waren; das tut man heute nicht mehr, höchstens daß man die Zahl der Schimmelpilze, wenn man sicher ist, daß sie nicht aus der Luft auf die Platten gekommen sind, besonders im Protokoll vorträgt. Zur Charakterisierung eines Wassers mag es angezeigt erscheinen, darüber Auskunft zu erhalten, ob die gezählten Ansiedlungen vielen oder nur einigen wenigen Arten angehören. Eine genauere Bestimmung der Artzahl ist aber ohne Aufwendung von unverhältnismäßig viel Mühe und Zeit nicht auszuführen.

Gewisse Bakterienarten, wie fluoreszierende, verflüssigende oder nicht verflüssigende, erkennt man auf den ersten Blick, wenn man Fleischwassernährböden gebraucht hat, ebenso Bac. violaceus und andere Farbstoffbildner. G. Thiry erachtet das regelmäßige und zahlreiche Vorkommen von Bac. violaceus als ein schlechtes Zeichen für die Reinheit des Wassers (r. C. II. 11. 562). Wenn eine Art besonders überwiegt, kann man ihrer im Protokoll Erwähnung tun. Sonst gibt man sich mit der Artbestimmung saprophytischer Keime bloß ab, wenn sie ein besonderes Interesse bieten; dies ist z. B. bei koliähnlichen Kolonien der Fall, bei deren Vorhandensein man Grund zu der Annahme haben kann, daß das Wasser mit tierischen oder menschlichen Fäkalien verunreinigt ist. Ferner läßt die Begutachtung für gewisse gewerbliche Zwecke unter Umständen die Berücksichtigung bestimmter Arten, z. B. für den Betrieb von Milchwirtschaften, Brauereien u. s. w., die Bestimmung angezeigt erscheinen, ob gewisse Keime im Wasser auf die einschlägigen Gärungsvorgänge von nützlichem oder schädlichem Einfluß sind. E. Chr. Hansen hat in diesem Sinne sterilisiertes Bier oder keimfrei gemachte Würze in Kölbchen mit je 0,02 ccm Leitungswasser versetzt und zum Vergleich 0,5 ccm desselben Wassers auf gewöhnliche und auf Würzegelatine ausgesät (r. C. 3. 377), eine Methode, die von anderen Untersuchern später wiederholt und teilweise abgeändert worden ist.

Nachweis von Kolibakterien.

Er wurde durch Anlegung von Massenkulturen zu liefern versucht. Ein Anreicherungsverfahren, wie es für Choleravibrionen in Ge-

Digitized by Google

brauch ist, haben E. Levy und H. Bruns gewählt; sie bebrüteten 48 Stunden bei 37° und spritzten von der Mischkultur Meerschweinchen 1 bis 2 ccm in die Bauchhöhle, Mäusen 0,2 bis 0,5 ccm unter die Haut, Kaninchen 2 bis 3 ccm in die Blutbahn ein. Bei einwandfreien Wässern blieben die Tiere am Leben; starben sie, dann gelang es immer, virulente Koli-, seltener Proteusarten herauszuzüchten (AfH. 36. 178). Demgegenüber behauptete J. Weißenfeld, Kolibakterien könne man aus jedem Wasser erhalten, wenn man nur genügend große Mengen nähme, und für den Ausfall des Tierversuchs sei es nicht entscheidend, ob das Bact. coli aus gutem oder schlechtem Wasser gezüchtet worden sei (ZfH. 35. 78). In sehr reinem Wasser findet man sie nicht (H. Vincent).

M. Kaiser empfahl, das von Lingnières angegebene Heuinfus zur Anreicherung zu nehmen; man bereitet einen 12proz. Aufguß, sterilisiert im Autoklaven, befreit ihn von dem allmählich sich absetzenden Niederschlag durch Filtration und setzt dem zu untersuchenden Wasser so viel davon zu, daß schließlich ein 3proz. Infus resultiert (AfH. 52. 121). T. A. Venema versuchte es mit natürlich saurer Bouillon (nach dem Vorgange von H. G. Ringeling bei Milch; C. 40. 600).

Weitgehende Verdünnungen des Wassers in Bouillon legten J. Petruschky und H. Pusch an und sahen zu, in welchen Röhrchen nach der Bebrütung noch Trübung auftrat; die betreffende Verdünnung nannten sie den Thermophilentiter (besser wäre nach S. 216 „Mesophilentiter"), diejenige, bei der sich mittels des Plattenverfahrens noch Kolibakterien herauszüchten ließen, den Kolititer. Beide stimmten einige Male überein, andere Male nicht.

Bei voraussichtlich sehr reinem Wasser werden die ersten Verdünnungen mit gleichen Mengen, die folgenden mit weniger Wasser angelegt: 100, 10, 1, 0,1 ccm. Ist die Probe mit 1 und 0,1 ccm nach 24stündiger Bebrütung völlig klar geblieben, die Probe von 10 ccm aufwärts dagegen trüb geworden, dann hat das Wasser den „Thermophilentiter 10". Um zu sehen, welche Bakterien die Trübung bedingt haben, werden Plattenaussaaten angelegt. Stellt sich dabei heraus, daß das Bact. coli in 100 ccm noch nachweisbar ist, in 10 ccm nicht mehr, so hat das Wasser den „Kolititer 100".

Bei sehr verunreinigten Wässern aus Flüssen, Teichen, Sielen müssen stärkere Verdünnungen angelegt werden (vergl. S. 468):

Von drei Erlenmeyerkölbchen, die genau 50 ccm sterilen Wassers enthalten, wird das erste mit 0,5 ccm des zu untersuchenden Wassers versetzt; von dieser Verdünnung wird 0,5 ccm ins zweite und von diesem Gemisch 0,5 ccm ins dritte Kölbchen übertragen. Sowohl vom unverdünnten Wasser als auch von jeder dieser drei Verdünnungen wird hierauf je 1 ccm und 0,1 ccm in gewöhnliche Bouillonröhrchen übertragen. Es sind hierzu acht Röhrchen erforderlich, die stufenweise Wassermengen von 1 ccm bis zu 0,0000001 ccm enthalten, nämlich:

1,0	0,01	0,0001	0,000001
0,1	0,001	0,00001	0,0000001 ccm Wasser.

Diese acht Röhrchen werden nach 24stündigem Verweilen im Brütschrank auf Trübung angesehen. Ist z. B. das letzte getrübte Röhrchen das mit 0,01, dann hat das Wasser den „Thermophilentiter" 0,01. Aus diesem und aus dem nächst vorangehenden werden dann Plattenaussaaten gemacht und die gewachsenen Kolonien auf ihre wenigstens annähernde Identität mit Kolibakterien untersucht. Meist finden sich welche oder wenigstens ihnen ähnliche darin; ist dies ebenfalls bereits in der Probe mit 0,01 der Fall, so hat das Wasser auch den „Kolititer" 0,01. (Die beiden Titer stimmen selbstverständlich nicht immer überein.) Danach stellten

Digitized by Google

die Autoren eine „Flußverunreinigungsskala“ auf und bezeichneten als Verunreinigungsgrad Nr.:

I den Kolititer 0,1 III den Kolititer 0,001 V den Kolititer 0,00001
II den Kolititer 0,01 IV den Kolititer 0,0001 VI den Kolititer 0,000001.

Die römische Zahl stimmt also mit der Zahl der Nullen überein (ZfH. 43. 304).

Zusatz von Phenol, der Koli- und ähnliche Bakterien nicht schädigen, andere dagegen zurückhalten soll, haben französische Autoren genommen. Diese Péréssche Methode wird folgendermaßen ausgeführt:

100 ccm des zu untersuchenden Wassers werden in einem sterilen Kolben mit 15 ccm Peptonbouillon und 2 ccm 5proz. Karbolsäure vermischt, in den Brütschrank gesetzt: 1. Generation.

Wenn sich nach 12 bis 30 Stunden Trübung gezeigt hat, wird je eine Oese in zwei Röhrchen, von denen das eine 8 ccm Nährbouillon, das andere 8 ccm Nährbouillon und 4 Tropfen 5proz. Karbolsäure enthält, übertragen. Diese Röhrchen der 2. Generation werden für 6 Stunden dem Brütschrank übergeben.

Mag danach die Flüssigkeit trüb sein oder nicht, wird eine Oese in ähnlicher Weise in zwei Röhrchen ausgesät, von denen das eine 8 ccm Bouillon mit, das andere ohne Phenol enthält. Einsetzen in den Brütschrank und warten, bis die Bouillon getrübt ist: 3. Generation.

Davon werden Aussaaten in Gelatine- oder Agarschalen gemacht, um Bact. coli oder verwandte Arten zu isolieren. Die Identifizierung erfolgt mit Hilfe der gebräuchlichen Nährböden.

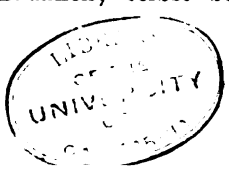
A. Gautié, von dem diese Angaben stammen (AP. 05. 124), hat das Verfahren folgendermaßen abgeändert und dabei jede Probe doppelt, selbst dreifach angelegt:

Gefäße	Wasser	Nährbouillon	5proz. Phenollösung
2 Kölbchen	100 ccm	15 ccm	2 ccm
2 „	80 „	12 „	40 Tropfen
2 „	50 „	7,5 „	25 „ (1 ccm)
2 „	20 „	3 „	10 „
2 Reagenzröhrchen	10 „	1,5 „	5 „
3 „	1 „	4 „	2 „
3 „	20 Tropfen	4 „	2 „
3 „	10 „	4 „	2 „
3 „	5 „	4 „	2 „
3 „	1 „	4 „	2 „

Von sehr verunreinigten Wässern können Bruchteile eines Tropfens genommen werden. Zur Erlangung eines Ueberblicks genügen Proben mit 100, 10, 1 ccm und 1 Tropfen. Die ganze Serie wird genommen, wenn der Gehalt eines Wassers an Kolibakterien und etwaige Schwankungen darin längere Zeit verfolgt werden soll.

H. Vincent bebrütete die mit Phenol versetzte Bouillon bei 41°; er achtete außerdem auf begleitende Anaerobier (AP. 05. 233).

Höhere Wärme, dagegen keinen Phenolzusatz wendete C. Eijkman an. Er versetzte das betreffende Wasser zu etwa 1/8 seines Volums mit einer sterilen wäßrigen Lösung von 10% Traubenzucker, 10% Pepton und 5% Kochsalz, füllte es in Gärungskölbchen oder -kolben und hielt es 24 Stunden und länger bei 46° (C. 37. 742). Es werden dadurch nur diejenigen Kolibakterien gefaßt, die nicht bloß bei 37°, sondern auch noch bei höheren Wärmegraden wachsen und Zucker vergären, und dazu gehören eben die Kolibakterien aus den Fäces von Warmblütern. Mit diesem Verfahren hat Christian unter Anwendung von Verdünnungen von 0,001 bei Spreewasser, 0,0001 bei Abflußwasser von Rieselfeldern, 0,000001 ccm bei Kanaljauche positiven Ausfall, d. h. Trübung des Kolbeninhalts und meist reichliche Gasbildung bekommen, während einwandfreie Wässer, wie das Berliner Leitungswasser und mehrere gute Brunnen, selbst bei Verwendung von 100 ccm Wasser



Digitized by Google

und darüber nach Versetzung mit den Nährstoffen und Bebrütung bei 46° keine Gärung erkennen ließen (AfH. 54. 386).

Jodkaliumkartoffelgelatine ist von K. Kißkalt zur Beurteilung von Flußwasserverunreinigungen herangezogen worden, weil mit ihr die Untersuchung, wenn der Nährboden (s. S. 109) einmal bereitet ist, weniger umständlich ausgeführt werden kann. Sie ist ursprünglich von Elsner zur Aufsuchung von Typhuskeimen in Wasser und Fäces verwendet worden, da deren Ansiedlungen nach 24 Stunden durch ihre kleinen, zarten Ansiedlungen auffallen, während Kolikolonien weniger zurückbleiben und um diese Zeit bereits ausgewachsen sind (ZfH. 21. 25). Später haben sie B. Proskauer und Elsner bei der Untersuchung von Abwässern benutzt, um einen Ueberblick über das Verhalten speziell von Fäkalbakterien in ihnen zu gewinnen (Vierteljhrschr. f. ger. Med. 16, Suppl. S. 111). Aber auch Kolibakterien werden, wie Kißkalt ermittelte, wenigstens in geringem Grade zurückgehalten, es treten vorwiegend Keime in die Erscheinung, die im Wasser zu reichlicherer Vermehrung gekommen sind als die echten Kolibakterien. Zur Ermittlung dieser gibt er deshalb der Bestimmung des Kolititers nach Petrusckky und Pusch den Vorzug und behält die Kartoffelgelatine nur für Fälle, wo ein Ueberblick gewonnen werden soll, wie sich Bakterien, die den Darmkoli nahestehen, z. B. zu einem Desinfektionsmittel verhalten (ZfH. 53. 305).

Nachweis von Anaerobiern.

Manche Untersucher vermeinten damit einen weiteren Einblick in die gesundheitlichen Verhältnisse beim Wasser gewinnen zu können. Nachdem F. Abba u. a. darauf hingewiesen hatten, daß Anaerobier in guten Trinkwässern nicht zu finden seien, G. Roux dagegen dem Vorkommen des Bazillus des malignen Oedems und des Tetanus im Wasser oder vielmehr in der Ablagerung, dem Schlamm und Unrat auf dem Boden von Wasserläufen und von Filterbassins seine Aufmerksamkeit zugewendet hatte, suchte A. Rodella in dem allerdings „nicht idealen“ Leitungswasser von Padua danach. Er gab zu je etwa 10 ccm sterilen Wassers kleine Würfel von Rinderblutserum, das bei 100° ½ Stunde an drei aufeinanderfolgenden Tagen sterilisiert worden war, und säte dann 1 bis 4 ccm des Leitungswassers hinein. Nach 3- bis 4wöchigem Aufenthalt bei 37° unter Einhaltung anaerobiotischer Bedingungen fanden sich Kokken und Bazillen vor, unter anderen sporentragende Stäbchen mit Trommelschlegelform. Die sukutane Verimpfung der Kultur tötete 6 Mäuse in kurzer Zeit, 3 Kaninchen erkrankten nur, eines mit einem Abszeß (C. II. 14. 503).

Spirillen.

In Wässern, namentlich schmutzigen, und ihrem Schlamm und in Faulflüssigkeiten leben viele Spirillen. Sie haben zumeist kein medizinisches oder hygienisches Interesse, dagegen sind sie wiederholt für morphologische Studien herangezogen worden. Am bekanntesten sind die großen Spirillen und von diesen wiederum das Spirillum undula; E. Zettnow hat eine kleinere Art als Spirillum undula minus

Digitized by Google

und eine größere als Spirillum undula majus unterschieden (Kutscher, C. 18. 614); zur Züchtung empfahl er Fleischwasseragar mit Zusatz von 0,1 % Ammoniumsulfat und 0,1 % Kaliumnitrat, um den Nährboden einer ausgefaulten Flüssigkeit, in der die Spirillen am besten beweglich sind, ähnlicher zu machen (C. 19. 393). Tafel X, Fig. 57 zeigt noch andere große Spirillen als diese aus Kanalschlamm; die danebenstehende Fig. 58 die kleinsten bekannten Spirillen, das Spirillum parvum, das E. v. Esmarch in einer Faulflüssigkeit fand und durch Porzellan- und Kieselgurkerzen durchgehen sah. Von Asbestfiltern wird es zurückgehalten (s. S. 35).

Es ist noch eine Anzahl anderer Arten verschiedener Größe bekannt, z. B. das Spirillum concentricum, von F. Loeffler in faulendem Rinderblute gefunden und daraus von S. Kitasato reingezüchtet (C. 3. 73); das Spirillum rubrum, das E. v. Esmarch aus einer 3 Monate in Berliner Leitungswasser mazerierten Maus isolierte und das, bei Körperwärme in Bouillon gezüchtet, nach 1 bis 2 Tagen sehr lange, lebhaft bewegliche Spirillen bildet, innerhalb des Gelatinestiches rot wächst und sich leicht weiterzüchten läßt, u. v. a. Die für uns wichtigsten Spirillen sind die Erreger der Cholera asiatica, die man, da sie gewöhnlich als kurze, etwa einer Viertelsschraubenwindung entsprechende Gebilde auftreten, Vibrionen nennt.

Nachweis von Choleravibrionen.

Die Anreicherungsmethode zur Auffindung der Choleraerreger im Wasser ist zuerst von L. Heim 1892 (C. 12. 353) auf Grund zahlreicher Versuche empfohlen worden, in der Weise, daß größere Mengen Wassers mit Pepton und Kochsalz versetzt werden, um den Vibrionen in diesem ihnen am meisten zusagenden Nährmedium Gelegenheit zu geben, bei geeigneter Temperatur an der Oberfläche zu wachsen; aus dem entstehenden Häutchen können sie dann mit Hilfe des Plattenverfahrens isoliert werden. Sehr gut eignet sich außerdem der Zusatz von Blutkuchenwasser, es muß aber mit Aufmerksamkeit sterilisiert werden (s. S. 94 und 433).

Das Verfahren ist, nachdem es sich in der Praxis gut bewährt hat, in die amtliche Anweisung zur Bekämpfung der Cholera aufgenommen worden und S. 439 dieses Buches abgedruckt. Es ist vorbildlich für andere ähnliche Untersuchungen geworden; aber nirgends hat es gleich sichere Erfolge gegeben wie bei dem Nachweis der Choleravibrionen, deren Sauerstoffbedürfnis und Wachstumsgeschwindigkeit so groß ist, daß sie sich bald aus einem Fäulnisgemisch an die Oberfläche heraufarbeiten. Unter den saprophytischen Wasservibrionen gibt es viele, die es ähnlich machen und das Ergebnis stören können, so daß nach der Isolierung mittels des Plattenverfahrens die Identität vermutlicher Choleraerreger mit anderen Züchtungs- und mit Agglutinationsmethoden festgestellt werden muß. Auch unter der Gruppe der Heu- und Kartoffelbazillen sind welche, die bei einer Vorkultur in Peptonwasser, namentlich mit Blutinfus, stören können. Glücklicherweise sind sie im Wasser selten.

Digitized by Google

Nachweis von Typhusbazillen.

Kaum einer anderen bakteriologischen Untersuchung ist so viel Zeit, Fleiß und Mühe geopfert worden als der Aufsuchung der Tyb. im Wasser, und trotz der gewiß nach Tausenden zählenden Versuche ist der Nachweis in einwandfreier Weise in nicht ganz einem Dutzend der Fälle geglückt. Der Grund liegt darin, daß die Erreger des Typhus, der eine Inkubationszeit von 12 bis 20 Tagen besitzt, wenn sie überhaupt mit Wasser übertragen worden sind, zu der Zeit, wo die Krankheit zum Ausbruch gekommen und festgestellt worden ist, schon längst aus der angeschuldigten Wasserentnahmestelle verschwunden sein können; ferner darin, daß die Tyb. von anderen im Wasser vorhandenen Keimen überwuchert werden und sich dann dem Nachweis leichter entziehen, zumal da es hier ein so prompt wirkendes Anreicherungsverfahren, wie wir es für die Choleravibrionen besitzen, nicht gibt. Immerhin reizt die Schwierigkeit der Aufgabe den Ehrgeiz der Untersucher, und man hat immer wieder auf Verbesserungen der Technik gesonnen, weil gegebenenfalls nicht bloß theoretische Förderungen zu erwarten sind, sondern auch die Einsicht in die Verbreitungsweise der Krankheit schärfer und die Grundlage für die zu ergreifenden Abwehrmaßnahmen gesicherter wird, selbst wenn für den einzelnen Fall nicht jedesmal ein greifbarer Vorteil herauskommen sollte.

In den „Maßnahmen zur Bekämpfung des Typhus“ (s. S. 412) ist als zur Untersuchung geeignetes Material unter I, 9 genannt: Wasser in der Menge von 3 bis 5 l, aus Kesselbrunnen a) von der Oberfläche, b) nach vorherigem Aufrühren des Grundes. Für den Gang der Untersuchung ist unter II A, Ziff. 4 folgendes vorgeschrieben:

„Zu I, 9. Es empfiehlt sich, das Wasser, namentlich wenn es klar ist, vor der Verarbeitung einige Tage bei Zimmertemperatur stehen zu lassen, alsdann einen bis mehrere Kubikzentimeter Wasser von der Oberfläche zu entnehmen und auf je eine Platte zu verteilen.

Statt dessen kann auch das folgende Verfahren zur Anwendung kommen: Das zu untersuchende Wasser wird frisch in einen oder mehrere hohe Meßzylinder von je 2 l Rauminhalt gegossen. Zu je 2 l Wasser werden 20 ccm einer sterilisierten 7,75proz. wäßrigen Lösung von Natriumhyposulfit (Natrium thiosulfuricum des Arzneibuchs für das Deutsche Reich) hinzugefügt und gut gemischt. Darauf werden 20 ccm einer sterilisierten 10proz. Lösung von Bleinitrat in Wasser hinzugesetzt. Der entstehende Niederschlag wird entweder durch Zentrifugieren oder durch Stehenlassen während 18 bis 24 Stunden und Abgießen der überstehenden Flüssigkeitsschicht gewonnen. Zu dem Bodensatz werden 14 ccm einer sterilisierten 100proz. wäßrigen Lösung von Natriumhyposulfit (Natrium thiosulfuricum des Arzneibuchs für das Deutsche Reich) hinzugefügt, die Mischung wird gut geschüttelt und in ein steriles Röhrchen gegossen, bis sich die nicht löslichen Bestandteile zu Boden gesenkt haben. Von der klaren Lösung werden je 0,2 bis 0,5 ccm wie unter II, 1 zu Platten verarbeitet.“

Im folgenden sollen diese und andere Verfahren näher besprochen werden.

Digitized by Google

1. **Anreicherung und Vorkultur.** a) Einfaches Stehenlassen des Wassers bei Zimmertemperatur, wie es in der eben genannten Reichsvorschrift verlangt ist, ist ein Verfahren, das von W. v. Drigalski stammt. Der leitende Gedanke war der, aus einer möglichst großen Menge Wassers (5 bis 10 l) die beweglichen Tyb. durch die Reizwirkung des zerstreuten Tageslichtes (direktes Sonnenlicht würde nachteilig sein) bei Zimmerwärme von 18 bis 20°, damit sich die Fäulnisbakterien nicht in unerwünschter Weise vermehren, an die Oberfläche zu ziehen. Es sollen nach Ablauf von 1 bis 2 Tagen zunächst Gelatineplatten zur orientierenden Keimzählung angelegt und dann Aussaaten auf Lackmuslaktoseagar gemacht werden, und zwar in der Weise, daß 5 und selbst mehr Kubikzentimeter, bei schmutzigem Wasser dagegen nur ½ bis 1, höchstens 2 ccm, auf der Oberfläche verteilt werden, worauf man den sehr naß gewordenen Nährboden unter einem Schirm trocknen lassen soll, ehe er in den Brütschrank bei 37° eingestellt wird. Durch Verwendung einer größeren Anzahl Platten kann man 100 ccm und mehr Wasser bakteriologisch untersuchen, was natürlich einen ungewöhnlich großen Aufwand an Nährmitteln bedingt.

Sind viele Typhus- und typhusähnliche Keime aufgegangen, dann sollen die Platten einen bis mehrere Tage stehen bleiben; während dieser Zeit verändern viele Kolonien ihr Aussehen derart, daß sie für eine weitere Berücksichtigung ausscheiden; die dann noch bestehenden typhusverdächtigen Kolonien werden im hängenden Tropfen mit der orientierenden Agglutinationsprobe geprüft und bejahendenfalls davon Reinkulturen angelegt (KGA. Arb. 24. 68).

b) Zusatz von Pepton und Kochsalz zu einer größeren Menge Wassers, wie bei dem Heimschen Verfahren für den Choleranachweis, und 24 Stunden im Brütschrank bei 37° stehen lassen. Entnahme von 10 ccm mit steriler Pipette von den oberen Partien und weitere Behandlung mit der Agglutination nach E. Altschüler (C. 33. 741).

c) Vermischung von 10 oder 20, 50, 100 und mehr Kubikzentimeter Wasser mit der 4- bis 5fachen Menge Malachitgrünphosphorsäuregelatine und Einstellen in den Brütschrank von 37°. Nach 12, 18 und 24 Stunden Entnahme und Aussaat von 1 Tropfen in ebensolche grüne Gelatine, davon Verdünnungen anlegen und Platten gießen, die bei 25° aufbewahrt werden, wie beim F. Loefflerschen Verfahren S. 416 und 420 beschrieben.

d) Zusatz von Nutrose als Nährmittel und gleichzeitig von Koffein als zurückhaltendes Mittel gegenüber anderen unerwünschten Bakterien nach W. Hoffmann und M. Ficker (AfH. 49. 229).

Die Anreicherungsflüssigkeit mit elektiver Wirkung ist eine Nutrosekoffeinlösung. Für 1 l Untersuchungswasser ist nötig:

1. Eine Lösung von 10 g Nutrose in 80 ccm sterilen destillierten Wassers. Die Nutrose löst sich im kochenden Wasserbad in einigen Stunden. Nicht filtrieren. Nach der Abkühlung etwaigen Wasserverlust ersetzen.

2. Eine Lösung von 5 g Koffein in 200 ccm sterilen destillierten Wassers. Sie ist kurz vor der Untersuchung herzustellen und erfolgt leicht bei etwa 80°. Schütteln und Verspritzen von Tropfen an der Glaswand ist peinlichst zu vermeiden.

Digitized by Google

3. Eine Lösung von genau 0,1 g Kristallviolett Höchst in 100 ccm sterilen destillierten Wassers; es ist auf vollkommene Lösung zu achten; sie ist stets frisch herzustellen.

Ausführung:

Nutroselösung 1 in Lösung 2 gießen (nicht umgekehrt!)

Koffeinlösung 2 vorher auf 55 bis 60° abkühlen; vorsichtig umschütteln.

Die Mischung zu 900 ccm des zu untersuchenden Wassers setzen.

Unter Umschütteln allmählich 10 ccm der Kristallviolettlösung 3 zusetzen.

Den Kolben für 12 bis 13 Stunden (nicht länger!) in den Brütschrank von 37° stellen.

In dieser Anreicherungsflüssigkeit ist der Nachweis der Typhusbazillen immer noch schwierig; man kann ihn führen:

Durch direkte Aussaat auf Lackmuslaktoseagar; oder durch Verarbeitung mit der Eisenmethode nach M. Ficker oder mit irgend einem anderen zum Typhusnachweis geübten Verfahren.

2. **Einengung und elektive Züchtung.** Es besteht dabei die Absicht, sämtliche im Wasser vorhandene Bakterien auf einem möglichst kleinen Raum zu vereinigen; außerdem sollen bei einer folgenden Aussaat auf einen elektiv wirkenden Nährboden die störenden Keime zurückgehalten werden. Beides hat man sowohl mit frischem Wasser, als auch solchem, das bereits einer Anreicherung unterworfen war, gemacht. Im besonderen sind hier herangezogen worden:

a) Die Agglutination mit folgender Zentrifugierung und Sedimentierung;

b) die Erzeugung eines Niederschlags durch chemische Mittel, die die Typhusbazillen bei dem feinflockigen Ausfallen mit zu Boden reißen sollen;

c) die Filtration durch bakteriendichte Filter.

a) Durch Agglutination mit spezifischem Serum die Typhusbazillen aus einem Gemisch niederzuschlagen, hat A. Peppler auf meine Veranlassung im Jahre 1900 im hängenden Tropfen versucht, die Ergebnisse ermutigten aber nicht zu weiterer Verfolgung.

Später hat A. W. Windelbandt die ganze Vorkultur (10 ccm), nachdem sie vom Bodensatz abgegossen war, mit stark agglutinierendem Serum versetzt, den entstehenden Bodensatz ausgeschleudert, dann durch Schütteln zerschlagen und auf Gelatineplatten ausgesät.

E. Schepilewski nahm etwas größere Wassermengen, 10 bis 20 ccm, auf 50 ccm Nährbouillon zu dem gleichen Verfahren und strich auf Lackmuslaktoseagar aus (C. 33. 394).

E. Altschüler versetzte 10 ccm der unter 1 b angegebenen Vorkultur mit agglutinierendem Serum im Verhältnis von 1 : 50, schüttelte während der Agglutination um und ließ den nach 7 Stunden freiwillig abgesetzten Niederschlag in ein anderes Röhrchen laufen, wo ebenfalls eine Kultur angelegt und dann agglutiniert wurde, und wiederholte dieses Verfahren mit einem dritten Röhrchen, dessen Bodensatz schließlich zur Aussaat auf Lackmuslaktoseagar genommen wurde. (Näheres darüber und die Beschreibung der Röhrchen s. C. 33. 741).

b) Die Erzeugung eines Niederschlags ist in der Reichsvorschrift empfohlen; es ist dort das Verfahren von Vallet zu Grunde

Digitized by Google

gelegt, wie es Schüder unter Verwendung von mehr Wasser und Abänderung der zugesetzten Mengen von Bleinitrat- und Natriumhyposulfitlösung geübt hat (ZfH. 42. 317).

M. Ficker fand bei der Nachprüfung an künstlich infiziertem Wasser, daß damit viele Tyb. überhaupt nicht niedergeschlagen wurden, oder im Niederschlag durch die schädigende Bleiwirkung zu Grunde gingen; er fand dagegen im Eisensulfat ein Mittel, mit dessen Hilfe sich die eingesäten Bazillen zu 97 bis 98% niederschlagen und nach Auflösung des Niederschlags mit weinsaurem Kali und Einsaat in elektiv wirkende Kulturflüssigkeit (s. 1 d, S. 493) mit dem Plattenverfahren wieder herauszüchten ließen (HR. 04. 7).

Die Eisensulfatfällung nach M. Ficker:

2 l Wasser werden in einem möglichst schmalen Glaszylinder oder, wenn eine elektrische Zentrifuge zur Verfügung steht, in größeren Zentrifugenröhrchen von etwa 2 ccm Inhalt verteilt. Falls man nur eine kleine Zentrifuge hat, wird ein Teil des mit den Chemikalien versetzten Wassers 10 Minuten lang zentrifugiert, dann vom Bodensatz abgegossen und in dieselben Röhrchen eine weitere mit Eisen versetzte Wasserprobe nachgefüllt, abermals 10 Minuten ausgeschleudert u. s. f. Dem Wasser werden auf je 100 ccm zugesetzt:

10proz. Sodalösung 0,4 ccm; 10proz. Eisensulfatlösung 0,35 ccm.

Mit Glasstab umrühren und im Eisschrank absetzen lassen oder zentrifugieren.

Vom Niederschlag abgießen oder abhebern.

Zusatz einer 25proz. Lösung von weinsaurem Kali, etwa die Hälfte des Volums des Niederschlags. Die dadurch beabsichtigte Auflösung muß durch sehr kräftiges Schütteln beschleunigt werden; sie braucht nicht vollständig zu sein, darf im Gegenteil nicht zu langsam ausgeführt werden.

Mit steriler Pipette einen Teil der über dem Rückstande bleibenden Flüssigkeit zur Aussaat entnehmen.

Aussaat von 0,2 bis 0,4 ccm auf eine Reihe von 3 bis 4 Lackmuslaktoseagarplatten.

Die in einfacher eingerichteten Arbeitsstätten mangelnde große Zentrifuge suchte O. Müller dadurch zu ersetzen, daß er den Niederschlag, ohne ihn aufzulösen, auf Papierfilter sammelte und unmittelbar zur Aussaat brachte. Da alkalisiertes Eisensulfat noch zu viel Keime im überstehenden Wasser ließ, nahm er dafür Eisenoxychlorid. Wenn das zu untersuchende Wasser genügende Mengen von Kalksalzen enthält, ist ein Zusatz von Alkali überflüssig. Man hat nur die 3 l Wasser mit 5 ccm Liquor Ferri oxychlorati (des Arzneibuchs für das Deutsche Reich) zu versetzen, mit einem Glasstab gründlich umzurühren und 1 Stunde absetzen zu lassen. Die überstehende Flüssigkeit wird abgegossen und der Niederschlag auf einem Papierfilter gesammelt. Dieser wird ganz oder zu einem Teil mit dem Glasspatel auf Lackmuslaktoseagar verrieben (ZfH. 51. 1).

c) Die Filtration des Wassers durch Asbest (S. 36) gestattet mit Sicherheit alle im Wasser befindlichen Keime auf einem kleinen Raum zu sammeln. Wenn das gestopfte Filter mit einer Scheibe Filtrierpapier bedeckt und dann nochmal etwa 2 mm hoch Asbest aufgestopft wird, gelingt es nach der Durchtreibung der Flüssigkeit

Digitized by Google

leicht, die Hauptmasse der Keime mit der obersten Asbestschicht abzuheben.

Diese Asbestschicht kann man dann im ganzen oder zum Teil nach einem der S. 414ff. angegebenen Verfahren zur Aussaat bringen (L. Heim).

Luft.

Die **Artbestimmung** der Keime wird am häufigsten in der Weise gemacht, daß man Nährböden in Schälchen ausgegossen einige Zeit, 1/4 oder eine oder mehrere Stunden dem Luftzutritt aussetzt und die darauf gefallenen Keime bei Zimmer- oder Brütschrankwärme auswachsen läßt. Auf diese Weise sind schon mehrfach Untersuchungen namentlich in Krankensälen, Wohnungen und anderen Aufenthaltsräumen oder im Freien mit besonderer Achtung auf etwaige Krankheitserreger angestellt worden, ohne daß etwas besonders Wichtiges dabei herausgekommen wäre; denn etwaige pathogene Keime sind bedeutend in der Minderzahl und werden in der Kultur zu leicht von Saprophyten überwuchert.

Fig. 225.

Um ihnen auf die Spur zu kommen, hat E. Concornotti geglaubt, durch Abschwemmung der nach 24 Stunden gewachsenen Ansiedlungen und Einspritzung in die Halsvene von Kaninchen dem Ziele näher kommen zu können. Von 46 Tieren starben 32,6% mit Staph. pyog. aureus (nähere Artbestimmungen sind aber nicht angestellt worden), 17,3% mit Staph. pyogenes (?) albus, 13% mit Bact. coli, 2 Tiere gingen an Pneumokokken, je 1 mit Bac. pyogenes fötidus und einem typhusähnlichen gasbildenden Bazillus ein. Streptokokken wurden vermißt, ein Zeichen, wie einseitige Ergebnisse die Methode geliefert hat.

Tuberkelbazillen, die überhaupt unter diesen Bedingungen nicht auf den Nährböden zu erhalten sind, hat G. Cornet im Staube von Gesimsen, Paneelen, Bilderrahmen u. s. w. nachgewiesen, also an Stellen, wohin sie nur durch die Luft gelangt sein konnten. Er nahm etwa haselnußgroße, feinporige, sterilisierte Schwämmchen feucht an den Ort mit, faßte sie mit geglühten Pinzetten und rieb damit die Wand, Brettleisten u. s. w. ab; seiner Berechnung zufolge gelangte durch Abreibung von 1 qm Wandfläche der Bakterienniederschlag von allermindestens 51 cbm Luft zur Untersuchung. Im Laboratorium wurden die Schwämmchen in 15 ccm Bouillon ausgedrückt und große zusammenhaftende Staubmassen mit Hilfe eines Platinrollers (Fig. 225) verteilt; die Staubaufschwemmung wurde zu je 5 ccm Meerschweinchen in die Bauchhöhle gespritzt. Soweit die Tiere nicht bald an Infektionen mit anderen Staubbakterien eingingen, blieben sie entweder am Leben oder wurden tuberkulös; dies war nur bei Staub der Fall, der von Räumen, in denen tuberkelbazillenhaltiger Auswurf leichtsinnig auf den Boden oder ins Taschentuch entleert worden war, stammte; in einem Fall wurden die Tb. noch 7 Monate nach dem Tode eines Schwindsüchtigen im Staube seiner ehemaligen Wohnung aufgefunden.

Zur **Mengenbestimmung** wurde die Luft in abgemessenen Mengen entweder direkt durch flüssige, feste oder über feste Nähr-

Digitized by Google

böden geleitet oder durch Filter gesogen und diese zur Aussaat gebracht.

Die Filtration ist von allen diesen Methoden die zweckmäßigste und von den dafür angegebenen ist die Anordnung von M. Ficker am empfehlenswertesten. Die dazu nötigen Vorrichtungen zeigen Fig. 226 und 227.

Die Durchsaugung der Luft durch das Filter kann im Labo-

Fig. 226.

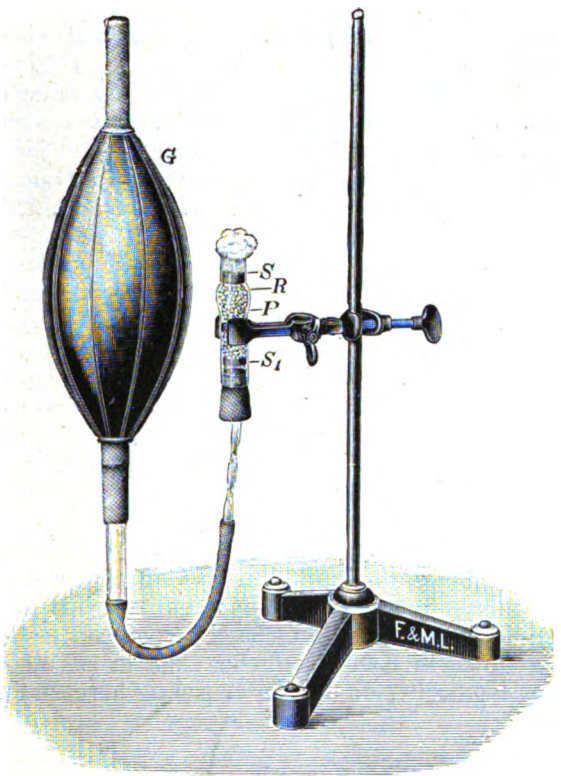
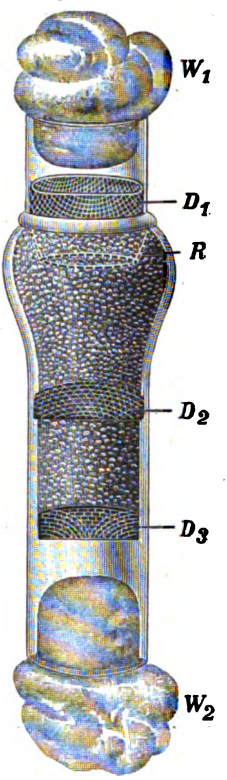


Fig. 227.



ratorium mit einer Wasserstrahlluftpumpe unter Zwischenschaltung einer Gasuhr oder außerhalb des Instituts mit einem Gummiballon geschehen.

Der Gummiballon G saugt bei jedem Hub ½ l Luft an und ist mit einem Membranventil nach K. Hürthle versehen. Man drückt die Birne 4- bis 8mal in der Minute, im ganzen etwa 100mal mit beiden zum Teil übereinander gelegten Händen zusammen.

Das filtrierende Material sind Glasbröckchen P: Farblose Glasperlen von der Größe kleiner Erbsen werden geglüht und in diesem Zustande in kaltes Wasser geschüttet, wodurch sie brüchig werden; nachdem sie getrocknet sind, werden sie im Mörser zerstoßen. Das zerstoßene Glas wird durch zwei Siebe von 0,5 und 0,25 mm Maschenweite gesiebt und dann eine Mischung von 3 Teilen des 0,5 und 1 Teil des 0,25 mm Siebes hergestellt.

Digitized by Google

Die Filterröhre hat eine Länge von 90 bis 100 mm und 17, an der größten Ausbiegung 23 mm im Durchmesser. Damit die Keime nicht zwischen Perlen und Glaswand durchschlüpfen können, ist dem Eingangsrohr eine etwa 5 mm lange, ins Innere ragende Verlängerung R gegeben.

Zuerst wird das Drahtnetz D_1 fest eingesetzt.

Dann kehrt man die Röhre um, füllt von der anderen Seite langsam Glasbröckchen ein und schüttelt dabei immer hin und her, bis die Körnermenge das kleinste Volumen einnimmt und auf 25 bis 27,5 mm Höhe gediehen ist.

Es wird das Drahtnäpfchen D_2 darauf gesetzt, nochmal eine Menge Glaskörner 20 bis 25 mm hoch aufgeschichtet und das Drahtnetz D_3 darüber gesetzt, so daß es die Körnerschichte mit seinem Boden gleichmäßig berührt. Die ganze Filtermasse wird dann zwischen zwei Holzstempeln nochmals zusammengedrückt und schließlich auf jede Oeffnung der Röhre ein Wattestopfen W_1 und W_2 gesetzt, das Ganze 2 Stunden bei 160° trocken sterilisiert. (D_1 der Fig. 227 ist in Fig. 226 = S, D_3 = S_1.)

Zum Gebrauch wird W_2 abgenommen, keimsicher beiseite gelegt und durch einen von einer Glasröhre durchbohrten sterilen Kautschukstopfen ersetzt (s. Fig. 226). Das Glasrohr ist durch einen starkwandigen sterilisierten Gummischlauch mit dem Aspirator verbunden. Nachdem das Filter an einem Stativ befestigt und auch W_1 abgenommen worden ist, werden 50 l Luft mit 100 Ballonhüben durchgesaugt. Danach werden die unterdessen keimsicher aufbewahrten Wattestopfen W_1 und W_2 aufgesetzt, nachdem vorher die Ränder des Röhrchens abgeglüht worden sind.

Die Aussaaten werden in einem staubfreien Raume vorgenommen. Zunächst entfernt man D_3 mit einem sterilen Häkchen und vermischt die zwischen D_3 und D_2 gelegenen Glasbröckchen in 4 Schälchen mit Nährgelatine. Dann nimmt man auch D_2 heraus und verteilt die Glaskörnchen des Auffangfilters auf 8 Gelatineschälchen; in den erstgenannten 4 Schälchen dürfen keine Keime aufgehen; die in sie ausgesäte Filtermasse dient zur Kontrolle, ob das Filter richtig hergestellt war. (Nach ZfH. 22. 43.)

Boden.

Die **Artbestimmung** der Keime im Boden wird im medizinischen Interesse nur ausnahmsweise verlangt; sie ist wegen der vielen, zum Teil sehr rasch wachsenden Bodenkeime ziemlich aussichtslos, wenn es sich um den Nachweis von Krankheitserregern handelt. Gegebenenfalls geschieht sie unter Heranziehung der für die betreffenden gesuchten Keime geeigneten Verfahren und Nährböden.

An pathogenen Keimen sind in gedüngtem Boden stets die Bazillen des Tetanus und des malignen Oedems zu erwarten, aber neben vielen Doppelgängern. Das Vorhandensein von Tetanusbazillen ist von allen am einfachsten festzustellen, wenn die mit der Bodenprobe geimpften Tiere an tetanischen Erscheinungen erkranken, aber die Isolierung der Tetanuskeime aus der Impfstelle oder vollends aus dem Boden ist eine mißliche Sache.

Digitized by Google

Von den zahlreichen typischen Bodenbakterien sind in erster Linie der auf den Gelatineplatten durch seine an ein Pilzmycel erinnernde, wurzelförmig verlaufende Oberflächenausbreitung ausgezeichnete Bac. mycoides, dann fluoreszierende Bakterien, Proteusarten, Streptotricheen (weiße und braune), die für den Laboratoriumsbetrieb leicht störend werdenden Kartoffel- und Heubazillen zu nennen u. v. a. Anna Stregulina hat gelegentlich ihrer Untersuchungen über die Beziehungen der Heubazillen zu den Erregern der Panophthalmie nach Hackensplitterverletzungen eine Anzahl von

Fig. 228.

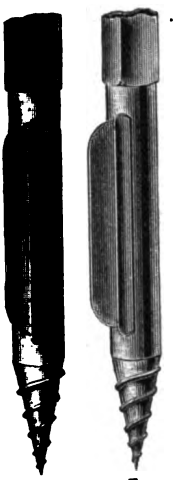


Fig. 229.

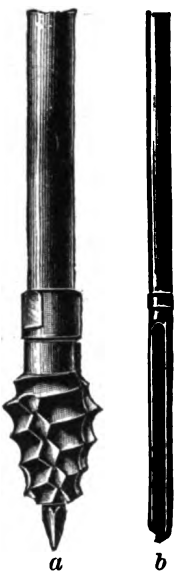
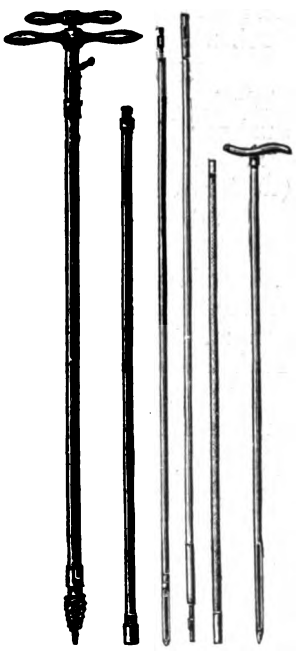


Fig. 230.



Bodenbakterien, darunter mehrere von der Heubazillengruppe (ZfH. 51. 18) gezüchtet und auf ihre pathogene Wirkung untersucht. Eine Anzahl anderer Saprophyten, die O. Gottheil von unterirdischen Pflanzenteilen gewonnen hat, ist S. 291 erwähnt.

Die **Mengenbestimmung** der Keime im Ackerboden u. dergl. hat für den Mediziner wenig Bedeutung, eher wird sie noch ab und zu zum Nachweis verlangt, ob eine Stelle, die als Bauplatz u. dergl. dienen soll, oder der sogenannte Fehl- oder Füllboden in Häusern und einzelnen Zimmern besonders auffällig verunreinigt ist.

Zur Entnahme des Bodens im Freien aus verschiedenen Tiefen dienen Bohrer, die mit Entnahmevorrichtungen ausgestattet sind.

Ein derartiges Instrument hat 1887 C. Fraenkel, ZfH. 2. 536 angegeben, dessen unteres Stück Fig. 228 zeigt. So lange der Bohrer von links nach rechts ins Erdreich getrieben wird, bleibt die Kammer wie bei b geschlossen; ist er in der gewünschten Tiefe angekommen,

Digitized by Google

dann genügen wenige Drehbewegungen in der entgegengesetzten Richtung, um die Hülse von der leeren Kammer wegzuschieben und dem Erdreich Eintritt zu verschaffen.

Eine andere Konstruktion zeigt Fig. 229. Es ist der Ventilbohrer von H. Nagel, den Davids 1894 benutzt hat, um Proben aus Flußschlamm heraufzuholen, ohne daß Wasser nachzudringen vermag (AfH. 24. 213). Ist er in der Tiefe angelangt, dann wird die unterste Spitze a ähnlich wie bei einem Troikart herausgezogen, worauf der Schlamm eindringt. Später hat H. Nagel ein Entnahmegefäß b durch den Bohrer eingeführt. Die Fig. 230 zeigt ihn mit dem nötigen Gestänge und Ansatzstücken für die unterschiedlichen Tiefen; außerdem rechts einen Stockbohrer nach C. Fraenkel zur Entnahme von Proben aus geringerer Tiefe.

Solche Bohrer lassen sich natürlich nur bei geeignetem weichem Erdreich verwenden. Nicht bloß steiniger Boden ist ungeeignet, selbst sandiger Boden setzt unter Umständen ihrer richtigen Funktionierung Hindernisse entgegen, wenn er viel staubförmige Bestandteile enthält (B. Proskauer, ZfH. 11. 88).

Schürfgruben ersetzen, wo sie angelegt werden können, diese verhältnismäßig kostspieligen Instrumente vollauf; sie erlauben die Entnahme in viel bequemerer Weise. Man steigt in die Grube auf einer Leiter hinab und schlägt von $^1/_2$ zu $^1/_2$ m, unten beginnend, Löcher heraus, aus denen man mit einem sterilisierten Spatel oder Holzstab Proben holt und in sterile Gefäße überträgt.

Für die Untersuchung der Proben dürfte wohl das Verfahren von L. Hiltner und K. Störmer am empfehlenswertesten sein; es ist im nachfolgenden wiedergegeben. Ihre Untersuchungen sind vom Standpunkt der Agrikulturbakteriologie aus vorgenommen worden und haben sich auf die Zahl- und die Artbestimmung erstreckt (KGA. Arb. a. d. biolog. Abteilung für Land- und Forstwirtschaft 3. 445; 1903).

Wie beim Wasser müssen auch beim Boden die Untersuchungen unmittelbar an die Entnahme angeschlossen werden; denn in den einige Zeit aufbewahrten Proben verändert sich die Zahl der Keime wesentlich, sei es, daß viele absterben, sei es, daß sie, durch gewisse Bodenarten begünstigt, eine unkontrollierbare Vermehrung erfahren. Auch in den nachher zu erwähnenden Aufschwemmungen erfolgte eine derartige Veränderung, und zwar ist im Verlaufe von Stunden eine ganz erhebliche Keimverminderung festgestellt worden; sie ist bei destilliertem Wasser besonders groß, darum soll Leitungswasser steril zur Aufschwemmung genommen werden.

Als Nährboden dient die gewöhnliche schwach alkalische Nährgelatine; Zuckerzusatz wäre zwar für die Bodenbakterien günstig, aber die Kolonien wachsen dann schleimig und nicht charakteristisch; Agar zu nehmen wird widerraten, weil der Wurzelbazillus sich auf der Oberfläche zu weit ausbreitet.

Ein Kolben von bekanntem Gewicht wird mit etwa 400 ccm Leitungswasser gefüllt, sterilisiert und danach gewogen, um die Menge des in ihm befindlichen Wassers genau auf Zehntelgramme zu erfahren.

Digitized by Google

Ein zweiter kleinerer Kolben wird ebenso sterilisiert und gewogen; er soll aber nur 100 ccm enthalten.

Ein sehr kleines, steriles, verschlossenes Wägegläschen wird mit der zu prüfenden Erde soweit als möglich gefüllt und bis auf Zehntelmilligramme genau ausgewogen.

Mit einem Platinlöffelchen holt man von möglichst vielen Stellen Erde heraus und überträgt sie in den größeren Kolben, wobei man das Löffelchen jedesmal im Aufschwemmungswasser reinspült und dann ausglüht. Es wird so oft übertragen, bis ungefähr 0,5 g Erde im Wasser ist und dann das genaue Gewicht des Erdegläschens auf Zentelmilligramme abermals ermittelt.

Der Kolben mit der Erdeaufschwemmung wird 200mal gut durchgeschüttelt.

Hierauf Anlegung der I. Verdünnung: Aus dem Wasser 3mal nacheinander je 1 ccm mit steriler Pipette entnehmen und davon je 1 ccm in 2 Petrischälchen wie bei einer Wasseraussaat mit Nährgelatine vermischen; gleichzeitig

Anlegung der II. Verdünnung: 1 ccm der ersten Aufschwemmung in das kleinere Kölbchen mit den 100 ccm Wasser übertragen, dessen Menge dadurch, was bei der späteren Berechnung berücksichtigt werden muß, um 1 ccm vermehrt wird; 100mal umschütteln und daraus 4 Plattenaussaaten mit je 1 ccm anlegen.

Die 6 Schalen werden in den Brütschrank von 20° gegeben, nach 24 bis 36 Stunden und dann täglich bis zum 8. Tage besichtigt. Am 10. Tage folgt die Auszählung.

Alles was in dieser Zeit an bedrohlichen Kolonien erscheint, wird „abgestiftet", d. h. mit einem Höllensteinstift betupft (s. S. 483), also alle aufkeimenden Mycoideskolonien und rasch verflüssigende Arten, die zu etwa 15% der Gesamtmenge zu erwarten sind, überhaupt stärker sich ausdehnende Proteusarten, Schimmelpilze und andere rasch wachsende Ansiedlungen. Die langsam verflüssigenden Kolonien sollen erst betupft werden, wenn man ihrer Verflüssigung ganz sicher ist.

Die Auszählung der Platten muß in der S. 484 beschriebenen Weise mikroskopisch erfolgen, auch bei weniger reichlich bewachsenen Platten, weil auf diese Weise selbst die kleinsten Ansiedlungen nicht übersehen werden. Gilt doch bei der I. Verdünnung jede Kolonie etwa für 700 und bei der II. Verdünnung etwa für 70000 Kolonien! Die genaueren Zahlen werden logarithmisch berechnet. Schließlich wird aus den Keimzahlen der 2 Platten der I. und der 4 Platten der II. Verdünnung das Mittel gezogen und auf 1 g feuchter Erde berechnet. Auf Trockensubstanz braucht man nicht auszurechnen, aber man soll nach Hiltner und Störmer den Wassergehalt der Probe bei jeder Untersuchung feststellen und seinen Wert ins Protokoll eintragen, damit verschiedene Untersuchungen verglichen werden können.

Bei besonders harten Proben muß die Aufschwemmung durch Verreibung im sterilen Achatmörser hergestellt werden, bei weichen Bodenarten vermeide man die gröberen und harten Teile und nehme nur das feinkörnige weiche Material.

Bei Entnahmen aus tiefer gelegenen Bodenschichten werden geringere Verdünnungen als angegeben nötig sein.

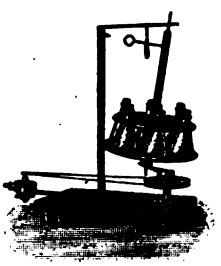
Digitized by Google

C. Fraenkel hat die Hauptmasse der Bakterien in 25 cm, häufig erst in 50 cm Tiefe gefunden, nach der weiteren Tiefe zu aber nicht eine allmähliche Keimabnahme festgestellt, vielmehr zeigte sich in 75 cm bis 1,5 m eine Grenzschichte, die die obere keimreiche Zone von der unteren keimarmen oder keimfreien trennte (ZfH. 2. 521).

Untersuchung von Haaren und Borsten auf Milzbrandkeime.

In Roßhaarspinnereien, Haar- und Borstenzurichtereien, sowie Bürsten- und Pinselmachereien kommen öfters Milzbranderkrankungen vor, die meist von Kratzeffekten der Haut ausgehen, in Lumpen- und Wollsortierereien auch Fälle von Inhalationsmilzbrand. Nach dem Reichsgesetz vom 22. Oktober 1902 ist in den erstgenannten Betrieben die Desinfektion der verdächtigen Waren mit feuchter Hitze vorgeschrieben worden. Seitdem sind die Erkrankungen seltener geworden, kommen aber immerhin noch vor, da abgesehen von gröblichen Verfehlungen gegen das Gesetz die Ware vor der Desinfektion oft noch „gebündelt" oder geradegerichtet werden muß, was gesetzlich erlaubt ist, damit sie in der feuchten Hitze nicht zu sehr leidet. Behördlicherseits wird eine Untersuchung verlangt, wenn Arbeiter infiziert worden sind, oder auch lediglich zur Kontrolle, ob ein verdächtiges Material vorschriftsmäßig desinfiziert worden ist.

Fig. 231.



Verarbeitung der Haare und Borsten im Laboratorium:

1. Direkte Auslegung auf Gelatine- und Agarplatten;

2. Aussaat des Waschwassers von Haaren u. s. w. in abgemessener Menge auf Gelatineplatten;

3. Waschwasser auf 80° erhitzen und dann auszentrifugieren oder durch Asbest filtrieren; Rückstand auf Agarplatten ausstreichen und zum Tierversuch verwenden.

Zu 1. Von den einzelnen, streng auseinander zu haltenden Proben werden aus verschiedenen Lagen, jedenfalls auch aus dem Innern der Bündel eine Anzahl Haare u. dergl. mit steriler Pinzette entnommen, mit der Schere in kleinere, etwa 1 cm lange Stücke zerschnitten und diese auf vorher gegossene Agar- und Gelatineplatten möglichst getrennt ausgelegt. Die Agarplatten werden bei 35 bis 37°, die Gelatineschälchen bei Zimmertemperatur oder besser im Brütschrank bei 20 bis 23° aufbewahrt und am anderen, sowie an den folgenden Tagen bei schwacher Vergrößerung durchgemustert.

Zu 2. Zur Gewinnung von Waschwasser werden in einen Kolben, der nicht ganz zur Hälfte mit Wasser gefüllt und im Dampf sterilisiert worden ist, so viel Haare gegeben, daß das Verhältnis zum Wasser 2 bis 10% beträgt. Das Gewicht der Haare und die Menge Wassers muß festgestellt sein, damit später die Keimzahl in 1 ccm Waschwasser und daraus auf 1 g Haare berechnet werden kann. Geschüttelt wird entweder mit der Hand oder im Schüttelapparat, z. B. der Fig. 231, ¼ bis ½ Stunde lang. Danach werden die Aussaaten auf Gelatineplatten zur späteren Keimzählung mit 1 ccm oder Bruchteilen eines

Digitized by Google

Kubikzentimeters gemacht, bei sehr schmutzigem Wasser nach Verdünnung mit sterilisiertem Wasser, ähnlich wie bei keimreichen anderen Schmutzwässern (s. S. 481).

Zu 3. Das Waschwasser mit den Haaren wird hierauf in ein Wasserbad von 80° gestellt, seine Temperatur auf 80° gebracht und auf dieser 15 bis 25 Minuten gehalten. (Etwaige Temperaturmessungen in der Flüssigkeit selbst dürfen nur mit einem im Dampf sterilisierten Thermometer vorgenommen werden.) Bei dieser Erwärmung werden die vegetativen Formen abgetötet; die Sporen von Milzbrandbazillen, allerdings auch die der mannigfaltigen anderen, vielfach ihnen ähnlichen und noch widerstandsfähigeren Fellbazillen bleiben am Leben. Man wird in den erhitzten Proben viele Sporenbildner vermissen, die in den nicht erhitzten mit dem Plattenverfahren nachgewiesen werden konnten; wahrscheinlich sind viele Haar-, Fell- und voraussichtlich auch Milzbrandbazillen im vegetativen Zustand an den Haaren u. s. w. vorhanden; bei Waren, die schon in der Fabrik einem, wenn auch unzureichenden Koch- oder Dämpfungsprozeß unterworfen worden waren, tritt der Unterschied zwischen den Platten aus erwärmtem und nicht erwärmtem Waschwasser besonders hervor, wohl deshalb, weil durch die Hitzewirkung bereits eine Schädigung, wenn auch keine vollständige Vernichtung vieler Keime eingetreten ist.

Nachdem das warme Wasserbad von 80° 15 bis 25 Minuten gewirkt hat, werden die Kolben herausgenommen; von ihrem Inhalt wird alsbald ein Teil auszentrifugiert. Wenn nur kleine Zentrifugenröhrchen zur Verfügung stehen, kann man nach der ersten Ausschleuderung vom Bodensatz abgießen und neues Waschwasser nachfüllen. Den Gesamtschmutz kann man mit Hilfe von Asbestfiltern rascher gewinnen, doch muß dazu ein Druckfilter mit Metallzylinder genommen und dieser vor jeder Filtration im Dampf sterilisiert werden. Vom Bodensatz bezw. Rückstand werden Ausstriche auf Agarplatten gemacht und Mäuse geimpft.

Da die Milzbrandbazillen in einem Gemisch mit anderen, namentlich Fäulnisbakterien, Tiere nicht sicher töten (vergl. S. 504), wird man etwa in der 6. Stunde nach der Impfung mikroskopische Präparate von der Impfstelle, und bei weiterem Verdachte auch Plattenkulturen von ihr anlegen.

Die Durchmusterung der Plattenkulturen aus den Haaren und ihrem Waschwasser bei schwacher Vergrößerung wird viele milzbrandähnliche Kolonien erkennen lassen, über die auch der Geübte fürs erste keinen bindenden Entscheid zu treffen vermag. Es geht hier wie bei der Untersuchung von Stühlen oder Wässern auf Choleravibrionen oder Typhusbazillen, von Erdeverunreinigung in Wunden auf Tetanusbazillen und bei vielen anderen, daß nämlich gerade dort die meisten Doppelgänger vorhanden sind, wo man die pathogenen Keime in ihrem natürlichen Vorkommen zu suchen hat.

Auf Agar zeigen sich viele schlierige Kolonien, die denen des Anthrax zum Verwechseln ähnlich sind, auf Gelatine bilden sich die Schlieren, namentlich bei tieferer Lage, oft nicht richtig aus. Man muß von allen verdächtigen Ansiedlungen Abimpfungen machen, in Gelatine kommen auch die ganz schwarzen undurchsichtigen Ansiedlungen mit unregelmäßig höckerigem Rande in Betracht.

Digitized by Google

Für die erste Abimpfung ziehe ich Bouillon vor, falls die Kolonie sicher ganz isoliert abgestochen werden kann. Wird die Bouillon trüb, so ist Milzbrand auszuschließen, dies ist auch der Fall, wenn auf klarer Bouillon ein faltiges, trockenes Oberflächenhäutchen vorhanden ist, ferner wenn die Stäbchen beweglich sind, wenn sie sich nicht nach Gram färben und wenn Mäuse oder Meerschweinchen mit den angelegten Reinkulturen nicht tödlich infiziert werden können. Sporenbildende Bazillen, die die Bouillon völlig klar lassen und kein Oberflächenhäutchen bilden, sind selten; immerhin habe ich schon solche vor mir gehabt, aber sie waren gramnegativ und für Mäuse nicht pathogen. Anderseits hatte ich einen lange in der Sammlung fortgezüchteten Milzbrandstamm, der die Bouillon leicht trübte.

Die Diagnose Milzbrand darf nur gestellt werden, wenn die Kulturen die typischen Merkmale, absolut unbewegliche Stäbchen in langen Schlieren und mit mittenständigen Sporen zeigen, wenn sie Versuchstiere töten, und wenn in deren Blut und Organen die grambeständigen Stäbchen vorhanden sind, die mit der Johneschen Färbung deutlich Kapselbildung und mit rotstichigem Methylenblau ausgesprochen rosa Hüllen um die Stäbchen, sowie inselförmige rosa Stellen im Präparat (am intensivsten beim Meerschweinchen und bei der Maus im Lungenausstrich) aufweisen. So lange die verdächtige Kultur Mäuse oder Meerschweinchen nicht getötet hat, darf man sie nicht als Milzbrand erklären. Die volle Pathogenität entfaltet sich unter Umständen erst in der zweiten oder dritten Generation (vergl. S. 345).

Als Beweis dafür sei folgende Beobachtung angeführt (L. Heim, ZfH. 50. 134):

Mit Blut und Gewebssaft einer zur Untersuchung eingetroffenen, bereits etwas faulig riechenden Anthraxkalbsmilz wurden Seidenfäden getränkt. Ein noch feuchter Faden wurde einer weißen Maus unter die Haut geschoben: sie blieb am Leben.

Nachdem die getränkten Seidenfäden 9 Tage im Exsikkator getrocknet worden waren, wurde einer für einige Augenblicke in Bouillon eingeweicht und auf Agar ausgestrichen. Hier gingen sieben typische Milzbrandkolonien und zwei von Fäulnisbakterien auf.

Von einer der Milzbrandkolonien erhielt eine weiße Maus soviel, als an der Spitze eines Platindrahtes haften blieb, subkutan: Auch dieses Tier blieb am Leben.

Von derselben Kolonie wurde eine Abimpfung auf schrägem Agar gemacht; auf ihm wuchs ein üppiger Rasen gut sporulierender Milzbrandbazillen. Eine davon angelegte Bouillonkultur erwies sich als virulent für Mäuse.

Für die Entscheidung, ob eingesandte Haare oder Borsten einer Desinfektion unterworfen waren, ist eine Zählung der aus dem Waschwasser aufgegangenen Kolonien erforderlich, nachdem die Gelatineplatten mehrere, wenn möglich 7 bis 10 Tage aufbewahrt worden sind; darum ist unter Ziffer 2 die Aussaat in abgemessenen Mengen verlangt. Einige Kolonien werden wohl immer angehen, denn es ist nicht zu erwarten, daß durch die Dampfbehandlung sämtliche Sporen abgetötet, und daß nicht nach der Desinfektion vereinzelte Keime aus der Luft, dem Staub, mit den Händen u. dergl. ans Material gelangt sind. Zahlreich können wenigstens im letzteren Fall die Keime nicht sein.

Wenn nicht sehr viele Keime aufgegangen sind, wenn namentlich Sporen nicht bildende Bakterien fehlen oder sehr in der Minderzahl sind, darf man nie behaupten, daß eine Fahrlässigkeit im Betriebe bei

Digitized by Google

der Ausführung der Desinfektion vorgelegen habe. Denn es kann entweder das Material allzu fest zusammengepackt oder der Desinfektionsapparat nicht geeignet gewesen sein; über letzteren Punkt kann der Besitzer nicht entscheiden, hier muß eine Prüfung seitens des beamteten Arztes vorgenommen werden. Daß nicht alle Desinfektionsapparate Genügendes leisten, haben Proskauer und Elsner, ZfH. 43. 493 bewiesen.

Wenn der Unternehmer die Haare u. s. w. angeblich in der vorschriftsmäßigen Weise hat auskochen lassen, und wenn trotzdem Milzbranderkrankungen vorgekommen sind, ja wenn selbst noch vereinzelte Milzbrandkeime gefunden werden sollten, kann der Arbeitgeber nicht haftbar gemacht werden, weil er zu seinen Gunsten geltend machen kann, daß durch zweistündiges Kochen in Wasser erfahrungsgemäß nicht alle Milzbrandkeime abgetötet werden.

Im Reichsgesetz vom 22. Oktober 1902 ist außer verschiedenen Vorsichtsmaßregeln auf Grund der Untersuchungen von Kübler eine Desinfektion der Ware vorgeschrieben, die nach Wahl des Betriebsunternehmers zu geschehen hat entweder

1. durch mindestens ½stündige Einwirkung strömenden Wasserdampfs bei einem Ueberdruck von 0,15 Atmosphären oder
2. durch mindestens ¼stündiges Kochen in 2proz. Kaliumpermanganatlösung mit nachfolgendem Bleichen mittelst 3—4proz. Schwefelsäure oder
3. durch mindestens 2stündiges Kochen in Wasser.

In der Praxis wird vielfach das letztere Verfahren gewählt, weil es den Betriebsunternehmern am einfachsten liegt. Daß dabei nicht alle Keime zu Grunde gehen, ist durch die S. 286 f. aufgeführten Kochversuche von Kübler bewiesen worden. Alle Milzbrandsporen wurden nur abgetötet, wenn eins der unter 1 und 2 genannten Verfahren angewendet wurde. Als unbedingt zuverlässig hat sich auch hier wieder der strömende Dampf bewährt. Bei einem Ueberdruck von 0,15 Atmosphären und 105° Temperatur waren die in verschlossenen und verschnürten Ballen verborgenen Testobjekte nach 1 Stunde von lebenden Milzbrandsporen befreit, bei locker geschichteten Haaren konnte der Versuch nach ½ Stunde mit Erfolg abgebrochen worden. Die in KGA. Arb. 15. 456 veröffentlichten Experimente Küblers sind die Unterlagen für das oben angezogene Reichsgesetz gewesen.

Digitized by Google

IV. Anhang.

1. Anleitung zur Einrichtung bakteriologischer Arbeitsstätten.

Für die folgende Beschreibung sind kleinere und mittelgroße Laboratorien in Berücksichtigung gezogen. Man braucht mindestens eine abgesonderte Abteilung im Hause, besser ist ein Gebäude für sich. Es soll womöglich ein eigener Zugang vorhanden und die Gas- und Wasserzuleitung unabhängig von den anderen Geschossen oder Entnahmestellen eingerichtet sein.

An Räumen braucht man mindestens ein großes Mikroskopier- und Arbeitszimmer, am besten nach Norden gelegen, einen Nebenraum für die Brüt-, Paraffin- und Serumapparate, eine Spülküche und einen kleinen Raum zur Aufbewahrung der im Versuch befindlichen Tiere, allenfalls noch eine Dunkelkammer für Photographie.

Das Mikroskopierzimmer wird einen Mindestflächenraum von 20 qm und eine Mindesthöhe von 3½ m haben müssen. Der Fußboden sei mit Linoleum belegt; als Unterlage eignet sich Beton oder Holz, am besten Stabfußboden in Asphalt verlegt. Die Wände werden glatt abgeschliffen und mit einem mindestens 3mal aufgetragenen Oelfarbenanstrich versehen, der obere Teil der Wände oder wenigstens die Decke soll mit Kalkfarbe gestrichen sein, denn sie muß Feuchtigkeit aufnehmen können. Die Farbe sei hell in gelblichem oder grünlichem Ton. Die Doppelfenster seien hoch mit möglichst großen Scheiben ohne Unterabteilungen; etwaige Vorhänge werden zum Schutz gegen Feuersgefahr zwischen den Doppelfenstern angebracht, und zwar als Zugvorhänge, bei denen ein einziger Flügel vorhanden ist, der seitlich zugezogen wird. Damit die Fenster geöffnet werden können, auch wenn Geräte, z. B. Mikroskope bei ihnen stehen, läßt man die großen Flügel vielfach erst etwas höher beginnen und setzt unter ihnen Fenster ein, wie sie gewöhnlich als Oberfenster in Gebrauch sind. Für wenigstens ein Fenster sei ein Ersatz des glastragenden Rahmens durch ein Fliegenschutzgitter vorgesehen, damit man ungehindert Zuglüftung eintreten lassen kann. Ventilationsöffnungen sind nur für größere Räume erforderlich; meist reichen die Abzüge der Digestorien hin.

Die Türen werden vollständig glatt ohne Füllungen angelegt, dazu müssen sie aus drei Teilen zusammengesetzt sein. Schwellen sind zu vermeiden. Die Türgriffe seien glatt und leicht abnehmbar, so daß sie gelegentlich im Dampf sterilisiert werden können; Türschoner aus Emailblech sind zu empfehlen.

Digitized by Google

Ist die Heizung zentral, so werde von der üblichen Anlage der Radiatoren an den Fensterwänden deshalb abgesehen, weil die Wärme dem Mikroskopierenden lästig werden kann. Die Heizungstechniker haben durch geeignete Berechnung so viel Wärmeeinheiten zuzuführen, daß auch bei anderer Anordnung der Heizkörper die erforderliche Wärme selbst am Fenster erzielt wird.

Die Einrichtungsgegenstände sind in einer besonderen Anlage beschrieben. Hier sei nur erwähnt, daß Holz möglichst vermieden wird und alle Gegenstände, Tische, Regale, Digestorien u. s. w. aus Glas und Metall hergestellt sein sollen, wie dies in Laboratorien für Pest-, Cholera- und Rotzuntersuchungen allgemein bereits üblich ist.

Die Digestorien seien mindestens 1 m breit, 70 cm tief, innen 1,80 m hoch und die Tischplatten nicht weiter als etwa 60 cm vom Boden entfernt (wegen der hohen Dampftöpfe). Die Schiebetüre sei ausbalanciert, leicht auf- und abzuschieben (nicht zu kleine Rollen!) und so weit hochzubringen, daß die Einsätze aus dem Dampftopf genommen werden können, ohne daß sich der Bedienende dabei gegen den Kopf stößt. Der Unterbau muß aus Eisen, die Platte aus Schiefer oder aus Holz mit Bleibelag sein. Die Bleiplatten seien etwa 3 mm dick, mit schwachem Gefälle nach dem Auslauf zu gelegt.

Die Armaturen für Gas und Wasser befinden sich außerhalb des Digestoriums und zwar an seiner Stirnseite dergestalt, daß die die Hähne tragenden Rohre etwa 10 cm unter der Tischplatte verlaufen und so der Hand leicht zugänglich sind. Die Auslaufstelle für Wasser und die Schlauchansätze für die Brenner befinden sich innen, ebenso die Auslaßstelle für das Abwasser (Ausmaße s. später). An der höchsten Stelle werden eine oder zwei Oeffnungen für die Abzüge angebracht und diese mit Glasschiebefenstern versehen, damit bei Nichtgebrauch kalte Winterluft abgehalten wird; bei Gebrauch sind sie geöffnet. An sie ist ein Tonrohr von 125 mm lichter Weite angeschlossen, das über Dach geführt ist und oben eine Schutzkappe, einen Deflektor, besitzt. In das Tonrohr hinein wird ein Gasauslaß mit Specksteinbrenner geleitet, der eine feine, langgezogene, leuchtende Flamme gibt. Sie muß so weit im Rohre brennen, daß sie durch Gegenzug nicht in das Digestorium zurückgedrängt werden kann.

Im Digestorium befinden sich ein Dampftopf oder auch zwei, davon ein gewöhnlicher Kochscher und einer mit geringem Ueberdruck (s. S. 67) für Sterilisierungen bei etwa 104°; ferner ein Kochtopf für Instrumente (Fig. 81), ein Emailtopf mit Einsatz zum Auskochen von Glaswaren und anderen Geräten, sowie ein Wasserbad.

Ein großer Autoklav muß außerhalb des Digestoriums untergebracht werden und mit Vorrichtung zur Kondensation des Wasserdampfes versehen sein (s. S. 69). Er wird mit gesonderter Röhrenleitung, Gaszuführung, Wasserzufluß und -ablauf versehen.

Die Arbeitstische für Mikroskopie befinden sich an den Fenstern. Ihre Höhe richte sich nach der Körpergröße der am meisten daran beschäftigten Personen, sei aber nicht über 80 cm. Sehr zu empfehlen sind Drehschemel (s. Fig. 232). Die Länge für einen Arbeitsplatz sei etwa 1,50 bis 1,80 m, die Breite mindestens 50, besser 70 bis 75 cm. Wenn die Tischplatten nicht aus Glas sind, werden sie mit Linoleum belegt.

Digitized by Google

Ein großer Laboratoriumstisch ohne Aufsätze werde in der Mitte des Raumes aufgestellt (Tischhöhe 1 m, Plattengröße 2 × 1 m). Er sei unten mit Schubladen und Schränken zur Aufnahme von Materialien und Instrumenten versehen und stehe auf etwa 25 cm hohen Füßen, damit die Reinigung des Bodens ermöglicht ist. Die Rohrleitungen für Gas und Wasser, sowie die Ableitungen für Abwasser sind im Tisch selbst untergebracht, weshalb das Schrankgestell unter der Platte am besten aus zwei getrennten Hälften besteht.

Regale für die Reagentien u. s. w. müssen gesondert an der Wand in der Nähe der Mikroskopierplätze angebracht werden.

Zur Aufbewahrung der Kulturen wird am besten ein verschließbarer Schrank aus Eisen (Fig. 129, S. 129) genommen.

Auch ein Eisschrank ist erforderlich, der statt mit Zink besser mit Steingutplatten ausgelegt ist (Fig. 89, S. 74).

Von Brütschränken braucht man in jedem Falle einen für 35 bis 37 °, außerdem einen Paraffinschrank. Für einigermaßen ausgedehntere Arbeiten ist ein Wärmeschrank für 22 ° erforderlich (S. 140).

Fig. 232.

Alle diese Schränke müssen aus Kupfer hergestellt sein. Sie werden am besten in einem besonderen Raum mit gesonderter Gaszuführung aufgestellt, damit Abends der Haupthahn für die übrigen Flammen geschlossen werden kann. Dieser Raum soll Ventilationsrohre aus Ton von 150 mm Weiteeinrichtung besitzen, die, wie beim Digestorium über Dach geführt, mit Deflektor endigen. Eine Lockflamme darf wegen Feuergefährlichkeit nicht angebracht sein. Selbstverständlich wird auch dieser Raum mit Wasserzuleitung und Ausgußbecken versehen.

In der Spülküche sollen zwei Bottiche aus Holz mit Blei ausgeschlagen oder beide aus Fayence aufgestellt werden. Ueber diesem Doppelbecken befindet sich eine Schwenktülle für warmes Wasser und für jede Hälfte je ein Auslaufhahn für kaltes Wasser. Das warme Wasser kann entweder aus einer Zentrale entnommen oder mittels Schnellwasserwärmer erzeugt werden. Für den Wasserabfluß sei je ein Standrohrventil vorgesehen, damit das Wasser niemals überlaufen kann; zur vollständigen Entleerung eines Beckens wird dieses Ventil herausgezogen. An der Wand über dem Becken bezw. der Schwenktülle ist ein Trockengestell mit Gesims und Zapfen von verschiedener Dicke angebracht, um Reagenzgläser, Kolben, Flaschen u. s. w. umgekehrt aufhängen zu können. Ferner sollen vorhanden sein: ein Fenstertisch, ein Abstelltisch und womöglich ein Digestorium zum Kochen der Nährböden, Desinfizieren der Glasgegenstände u. dergl.

Der Raum für Versuchstiere kann unter Umständen durch ein größeres Digestorium am Mikroskopierzimmer ersetzt werden. Er macht aber die Anlage eines Seuchenstalles nicht überflüssig. Wird ein eigener Raum eingerichtet, so muß er heizbar sein. Der Boden wird asphaltiert und mit Gefälle nach einer Fußbodenentwässerung versehen. Es muß Gas- und Wasserleitung eingerichtet, sowie ein Operationstisch und ein Metallgestell für die Tierbehälter aufgestellt werden. Außerdem sei ein Holzbottich zur Aufnahme von Lysol-

Digitized by Google

lösungen oder dergl. vorhanden, um die Käfige darin behandeln zu können. Diese dürfen nicht zu dicht stehen; eine gegenseitige Entfernung von 40 bis 50 cm bietet Schutz gegen etwa verstreute Infektionsstoffe. Wie im Tierstall, muß auch hier ein Ventilauslaufhahn mit Schlauchverschraubung und Gummischlauch vorhanden sein. Der Abschluß nach der Kanalisation zu geschieht mit sterilisierbarem Fußbodenentwässerungsapparat nach Eitel oder wenigstens durch einen Geruchverschluß aus Ton oder Porzellan, um mit Säuren oder Sublimat desinfizieren zu können. Die Ablaufröhren seien aus Ton.

Kochvorrichtungen, Wasserversorgung und Abwasserleitungen.

Heizquellen können Gas, Petroleum, Spiritus oder Elektrizität sein. Wo Gas aus Fabriken zu haben ist, wird dieses mit Vorteil verwendet. Die Einrichtung für ein Laboratorium muß folgende Bedingungen erfüllen: Es sollen zwei getrennte Leitungen für Heizgas vorhanden sein, und zwar eine sogenannte Verbrauchs- und eine Brütleitung. Letztere ist vor dem Gashaupthahn abzuzweigen und hat den Zweck, bei Tag und Nacht Gas zu liefern, während die Verbrauchsleitung nach Beendigung des Laboratoriumsbetriebes geschlossen wird. Der Gasmesser soll für die höchste Zahl der Flammen, die voraussichtlich je gebraucht werden wird, eingerichtet sein; für die kleinsten Laboratorien muß als Mindestflammenzahl 20 angenommen werden.

Ueber die Zuleitung der Rohre kann nur an der Hand eines Planes Bestimmung getroffen werden. Doch mache man sich von vornherein zur Regel, möglichst an jeden Punkt, wo überhaupt einmal Gas gebraucht werden könnte, die Rohrleitung gelangen und in jedem Falle mit einem T-förmigem Auslaßstück endigen zu lassen. T- oder Kreuzstücke müssen an Rohrübergängen von der Decke oder vom Fußboden nach der Wand zu eingefügt werden.

Die Weite der Rohrleitung betrage vom Gasmesser ab mindestens 25 mm (= 1 Zoll), bei großen Verhältnissen bis zu 50, selbst 80 mm. Wenn auch eine 25 mm-Leitung für etwa 30 Flammen ausreicht, so wird man selbst bei geringem Bedarf diese Weite wählen, um den erforderlichen Druck zu erhalten, ohne den die richtige Flammentemperatur bei einem Bunsenbrenner nicht zu erzielen ist. Der Gasdruck schwankt während des Tages und wird in der Regel nicht höher als 65 mm Wassersäule gegeben, ist aber zu Zeiten geringeren Bedarfs wesentlich niedriger; um für solche Stunden gedeckt zu sein, ist eben eine gehörige Weite des Gasrohrs unerläßlich.

Bei der Verteilungsleitung ist die geringste Rohrweite 13 mm (= $^1/_2$ Zoll). Aber für Digestorien und Arbeitstische soll kein Gasrohr unter 20 mm (= $^3/_4$ Zoll) Lichtweite genommen werden, weil hier auf einem kleineren Raum mehr Auslaßhähne angebracht werden müssen. Als Auslaßhähne verwende man stets Doppelschlauchhähne, deren Weite dem 13 mm-Verteilungsrohr zu entsprechen hat.

Gewöhnliche Bunsenbrenner können durch Gummischläuche mit dem Schlauchhahn verbunden werden. Im Handel ist eine bestimmte Qualität unter dem Namen „Gasschläuche“ zu haben. Sie können aus grauer, roter oder schwarzer Gummimischung sein. Alle stabilen Apparate zu Koch- und Brützwecken sollen mit Metallleitung ver-

Digitized by Google

sehen sein; denn bei Gummischlauchverbindungen sind schon wiederholt Kohlenoxydvergiftungen und Explosionen vorgekommen.

Für alle unbeweglichen Leitungen, bei denen die Flamme stets an derselben Stelle bleibt und ein Thermoregulator oder dergl. nicht zwischengeschaltet ist, also bei Trockensterilisierungsschränken und größeren Dampfsterilisatoren, kann man der Billigkeit halber Verbindungsröhren aus Blei nehmen; sie dürfen jedoch nicht unmittelbar an die Schlauchhähne und Apparate angelötet werden, sondern es muß beiderseits eine auseinandernehmbare Konusverschraubung vorgesehen sein (wie am Regulator der Fig. 133 b bei A und Z, S. 136).

Bei allen beweglichen Leitungen ist die Verbindung mit biegsamen Spiralrohren aus Metall ohne Gummieinlage herzustellen, also für alle kleineren Dampfsterilisatoren, sämtliche Brüt-, Paraffin- und Serumschränke, kurz alle mit Thermoregulatoren versehenen Apparate. Das Spiralrohr ist mit dem Schlauchhahn einerseits, dem Apparat anderseits mittels Konusverschraubung solid zu verlöten.

Bei Ersatz für Gas kann an Gasolin gedacht werden, aus dem in besonderen Apparaten Heizgas durch Mischung von verdampftem Gasolin mit Luft erzeugt wird. Gasolin ist ein Destillationsprodukt aus Petroleum; das russische Erzeugnis wird bevorzugt. Für ein mittleres Laboratorium wäre ein Apparat für 20 bis 50 Flammen erforderlich. Die Rohre müssen denselben Durchmesser wie bei Leuchtgas haben; für ihre Anlage gelten dieselben Regeln.

Fig. 233.

Petroleum kommt als Ersatz in erster Linie in Betracht. Für Autoklaven, Dampftöpfe, Heißluftsterilisatoren, Wasserbäder und dergl. sind Petroleumbunsenbrenner mit einer oder mehreren Flammen nötig; sie werden bis zu 5 Flammen geliefert.

Ein derartiger Brenner (Fig. 233) besteht aus einem Vorratsgefäß mit Eingußöffnung und Pumpe, ferner aus einem Röhrenvergaser und der Brennereinrichtung mit Schornstein. Das Vorratsgefäß wird durch eine verschließbare Oeffnung gefüllt. Unter ihr zweigt ein Röhrchen mit Schraube ab, die dazu dient, die Flamme kleiner zu machen und abzulöschen, indem bei ihrer teilweisen oder vollständigen Aufdrehung der Druck im Vorratsgefäß vermindert oder ganz abgelassen wird. Die Speisung und Hochbringung der Flamme wird durch die Pumpe erzielt, die das Petroleum nach dem hochgelegenen Vergasungsraum zu drücken hat und ab und zu auf- und niedergezogen werden muß. Das Vergasungsgefäß besteht aus einem Röhrensystem, das in einem Näpfchen mit Spiritus steht. Die Spiritusflamme ist lediglich zur Vorwärmung des Vergasers bestimmt, später besorgt die Flamme selbst diese Vorwärmung und Vergasung des hochgepumpten Petroleums. Das Gas tritt durch eine am Grunde der U-förmigen Vergasungsröhren gelegene feine Düse aus, reißt atmosphärische Luft mit sich und brennt einige Zentimeter oberhalb mit einer kräftigen, stark hitzenden, nicht leuchtenden Flamme. Will man sie ablöschen, so wird lediglich die oben erwähnte bei der Eingußöffnung gelegene Schraube aufgedreht, dann strömen die unter Druck befindlichen Petroleumgase aus und entziehen der Flamme die Nahrung.

Spiritusflammen müssen zur Aushilfe für die Ausglühung der Platinnadeln u. dergl. ersparnishalber nebenbei benutzt werden. Größere Apparate für Spiritus oder Benzin sind weniger empfehlenswert; diese Heizung ist teuer und nicht ganz ungefährlich.

Digitized by Google

Einfache Petroleumlampen ohne Glasteile eignen sich für die Erwärmung von Brütschränken; wenn die Einstellung der Wärme durch Regulierung des Dochtes nicht genügend ist, kann eine selbsttätige Reguliervorrichtung der Fig. 138, S. 142 genommen werden.

Elektrische Heizung wird neuerdings in zahlreichen Laboratorien für die Apparate eingerichtet (s. z. B. das elektrisch geheizte Wasserbad Fig. 63 b, S. 29, den Regulator Fig. 137, S. 142 u. s. w.).

Wasserversorgung. In kleineren und mittleren Laboratorien genügt ein Hauptleitungsrohr von 25 mm Lichtweite, vorausgesetzt, daß der Druck wenigstens 2½ Atmosphären beträgt; bei geringerem Druck muß man 30 mm nehmen. Liegt das Laboratorium in einem Gebäude mit mehreren Wasserabzapfstellen, z. B. in einem Krankenhaus u. dergl., dann muß man sich von jenen Abzapfungen unabhängig machen und für das Laboratorium eine eigene Leitung verlangen. An frostgefährdeten Stellen lasse man die Leitung einige Zentimeter von der Wand entfernt in Rohrschellen legen; man kann sie dann nach Belieben mit Isoliermaterial umgeben.

Die Abzweigungen für Laboratoriumstische und Digestorien seien 20 mm weit, die gewöhnlichen Auslässe 13 mm; an solche kann immer noch eine Wasserstrahlluftpumpe angeschlossen werden, doch ist für diese die Weite von 20 mm vorzuziehen. Es empfiehlt sich, an den Auslässen Doppelhähne, ferner für Wasserbäder und Kühlzwecke einen kleinen Ventilauslaufhahn anzubringen. Die 13 mm-Auslaufhähne lasse man mit konischen Reduktionsstücken versehen, damit gewöhnliche Verbindungsschläuche mit Leichtigkeit übergeschoben werden können. Die gewöhnlich von den Installateuren angesetzten Auslaufhähne eignen sich für Laboratorien weniger, weil sie eine glatte Außenseite haben, an die sich nur schwer ein Schlauch anschließen läßt, insbesondere aber, weil sie mit Gummischeibenverschluß versehen sind, der für die Dauer nicht dicht hält und den Durchgang des Wassers behindern kann. Solche Membranhähne werden besser durch Ventilhähne ersetzt, bei denen der Verschluß durch eine Spindel mit Ventilsitz und Lederdichtung bewirkt wird.

Wasserableitung. Für kleinere und mittlere Laboratorien muß ein Hauptabflußrohr von 80 bis 100 mm Weite vorgesehen sein. Die Abzweige von den Tischen und Digestorien müssen mindestens 40 mm, für Doppeltische 65 mm weit sein. An jedem Ausgußbecken sei ein Geruchverschluß vorgesehen, der in U-Form oder als Flaschenverschluß ausgeführt sein kann. Ist er aus Blei, so muß die Wandstärke wegen Säuren, Quecksilberlösungen u. dergl. 5 mm betragen. Werden voraussichtlich öfters Säuren eingegossen, dann muß der Verschluß und das Abflußrohr aus gebranntem Ton hergestellt werden.

Infektionsstoffe dürfen überhaupt nicht in die Ausgußbecken gelangen! Darum sollen alle mikroskopischen Präparate über einer auskochbaren Schüssel (s. S. 20 und 47, Ziffer 5) abgewaschen werden. Bei besonders gefährlichen Arbeiten, z. B. in Pest-, Cholera- und Rotzlaboratorien wird man vorsichtigerweise nur einen Auslaß anlegen und ihn mit einem Geruchverschluß aus glasiertem Ton oder Porzellan versehen, damit Säuren behufs Desinfektion

Digitized by Google

der Abwässer eingegossen werden können. Zwischen diesem und der Abwasserleitung wird ein Hahn eingeschaltet, der erst geöffnet werden darf, wenn die Desinfektionsmittel genügend lange eingewirkt haben.

Einige Regeln für bakteriologische Arbeiten.

1. **Allgemeines.** Ein Terminskalender enthalte den Arbeitsplan für jeden Tag. Sämtliche Untersuchungen sind in ein Protokollbuch einzutragen, wenn möglich in tabellarischer Aufzeichnung. Kontrollversuche sind, wo irgend erforderlich, anzustellen.

Mit dem Ausstreichen auf Nährböden und der Anlegung einiger mikroskopischer Präparate ist es nicht getan, die Sache muß auch untersucht werden! Die eigentliche Tätigkeit fällt auf die Untersuchung der Kulturen, also auf die nächsten Tage, selbst Wochen nach der Aussaat. Die systematische Durchforschung angegangener Kolonien und die Weiterverfolgung ihrer Eigenschaften ist der Schwerpunkt.

Bei unerwarteten Ergebnissen wiederhole man den Versuch. Hat man scheinbar etwas Neues gefunden, so halte man erst Umschau in der Literatur, ob man nicht schon etwas Bekanntes herausgebracht hat.

Wenn Untersuchungen nach erprobten Methoden nicht gelingen, suche man die Ursache immer zunächst in dem eigenen Verfahren, ehe man der Methode oder den zu ihrer Ausführung verwendeten Hilfsmitteln die Schuld beimißt.

2. **Schutzkleidung.** Im Laboratorium ist mindestens eine lange Schürze mit Brustlatz zu tragen, viel besser ist ein sog. Operationsmantel aus Drillich- oder grobem Hemdenstoff, hinten zuzuknöpfen, mit Aermeln, einem Bande um den Leib und einer Brusttasche, in die niemals Kulturen gesteckt werden dürfen. Ist unglücklicherweise infektiöses Material hingekommen oder liegt nur der Verdacht dafür vor, dann ist er im Dampf zu sterilisieren. Sonst genügt das Auskochen, wie bei Wäsche.

Bei Arbeiten mit besonders gefährlichen Dingen wird darüber noch eine Gummischürze mit Brustlatz angezogen, allenfalls noch Gummiärmel; im Pestlaboratorium werden entweder Ueberschuhe getragen oder die Stiefelsohlen vor dem Verlassen des Raums auf einem mit Lysollösung befeuchteten Tuche abgerieben.

3. **Mikroskopische Präparate.** Das von den Gläsern abfließende Spülwasser ist trotz Fixierung in der Flamme oft noch keimhaltig; deshalb fasse man die Gläser bei der Behandlung mit Farbstoffen und Spülung nur mit Pinzette und nach der Trocknung nur an solchen Stellen mit den Fingern an, wo die Flüssigkeit nicht hingekommen ist. Ueber Trockenpapiere s. S. 47 unten. Ueber die Auffangung des Spülwassers in Emailschalen s. S. 511. Bei der Aufbringung von Immersionsöl oder Balsam ist die Berührung der Präparatschicht mit den Stäbchen zu vermeiden. Nicht für die Sammlung bestimmte Objekte müssen ausgekocht werden. Zuvor nehme man das Oel mit Xylol ab, weil beim Auskochen auch unter dem Abzug unangenehm riechende Destillationsprodukte des Zedernöls im Raume belästigen.

Digitized by Google

4. Mit **infizierten Tieren** sei man sehr vorsichtig, insbesondere ist zu bedenken, daß die eingeimpften Keime ans Fell gelangt sein können, und zwar nicht bloß bei der Impfung, oder wenn sich äußerlich wunde oder geschwürige Stellen entwickelt haben, sondern auch wenn die Infektionserreger mit Kot oder Harn u. s. w. entleert werden. Man fasse deshalb die Tiere nicht mit den Händen an, sondern nur mit Zangen, mit Tüchern oder Handschuhen; mit diesen darf dann nichts anderes (Türklinken!) berührt werden.

Diener und Wärter sind immer und immer wieder zu erinnern: man kontrolliere die praktische Ausführung oft und gehe selbst jederzeit mit mustergültigem Beispiel voran!

5. **Kulturen** von einzelnen Bakterienstämmen müssen immer rein, frei von allen anderen sein. Etwa verunreinigt befundene Sammlungskulturen reinige man alsbald mittels des Plattenverfahrens.

Die Anlegung von Platten aus einer Aufschwemmung u. dergl. hat stets sofort zu geschehen, sonst können Zufälligkeiten zu den größten Irrtümern führen. Denn viele Bakterien vermehren sich sehr rasch und Krankheitserreger werden leicht von Saprophyten überwuchert.

Ehe eine vorhandene Reinkultur zu irgend einem anderen Zwecke gebraucht wird, ist in erster Linie eine Abimpfung auf frischen Nährboden zur Sicherung der Reinkultur vorzunehmen.

Alle Kulturen werden vor Licht geschützt aufbewahrt und beim Gebrauch vor direktem Sonnenlicht behütet.

Platten, auf denen sich Schimmelpilze angesiedelt haben, sind vorsichtig zu behandeln; jeder Luftzug führt eine Menge Konidien fort, wodurch nicht bloß die nächste Umgebung auf der Platte, sondern auch der ganze Raum verunreinigt werden kann.

Mit hitzeständigen Keimen sei man ganz besonders vorsichtig. Wer mit Kartoffel-, Erde- u. dergl. Bazillen arbeitet, gefährdet den Laboratoriumsbetrieb, denn von einem einzigen unzweckmäßig oder unachtsam behandelten Kulturröhrchen kann eine Verseuchung der übrigen Nährböden ausgehen.

Ein oder einige wenige Röhrchen mit solchen Keimen (wenn sich z. B. auf sterilisierten Kartoffeln häutige, faltige Ueberzüge finden), vernichte man sofort dadurch, daß man sie im Ofen verbrennen läßt.

Sind mehrere erschienen, so halte man sie von anderen Kulturen peinlichst getrennt, bis eine Anzahl zusammengekommen ist, die dann im Autoklaven oder im Dampftopf mit geringem Ueberdruck (siehe S. 66) 2 bis 3 Stunden lang sterilisiert werden. Die danach entleerten Gläser verwende man sicherheitshalber nicht mehr zu Kulturzwecken. Gewöhnlicher Dampf reicht zur Abtötung sehr widerstandsfähiger Keime in der üblichen Form nicht aus.

Alle Reagenzgläser für Nährböden sterilisiere man vor der Füllung im Trockenschrank.

6. **Desinfektion.** Platinnadeln werden sofort ausgeglüht und aufrecht gestellt.

Wertlose Dinge (Trockenpapiere u. s. w.) werden nach Gebrauch bald verbrannt. Infizierte Sachen dürfen nicht in den Abfalltopf ge-

Digitized by Google

worfen werden. Instrumente und Geräte werden sofort in schwacher Sodalösung ausgekocht; man tauche sie ganz unter, ohne etwas zu verspritzen, und heize sogleich an, damit sie nicht im infizierten Zustande halbe Tage hindurch oder noch länger liegen bleiben. Der Topf soll nicht zu hoch mit Wasser gefüllt sein, damit die Flüssigkeit, die oft schäumt, nicht überkocht; dagegen hilft schon eine leichte Verschiebung des Deckels zur Seite. Uebergekochte Flüssigkeit ist immer noch infektionsverdächtig, wenn sie nicht lange genug gekocht hat; man gieße Sublimat- oder Lysollösung darauf und lasse sie stundenlang wirken; danach wird abgewischt. Ist der Stubenboden besudelt worden, dann ist nach Uebergießung des Desinfektionsmittels dafür zu sorgen, daß niemand hineintritt. Sublimatlösung häufig auf den Boden auszugießen, ist bedenklich, weil nach dem Trocknen die Luft mit quecksilberhaltigem Staub geschwängert wird.

Das sicherste und beste Mittel ist und bleibt der Dampf; er soll, wo immer angängig, verwendet werden; das Auskochen soll sich womöglich auf die Reinigung der bereits sterilisierten Dinge von gelatinierenden und anderen Stoffen beschränken (s. S. 71).

Im übrigen hüte man sich bei allen Gefäßen, die mit Nährmaterial in Berührung kommen können, vor der Anwendung desinfizierender Lösungen, insbesondere von Sublimat, denn Spuren davon, im Glase zurückgeblieben, entfalten entwicklungshemmende Wirkung (s. S. 72).

7. **Sauberkeit und Ordnung** ist bei allen bakteriologischen Arbeiten aufs peinlichste zu beobachten. Nichts darf im Laboratorium unachtsam verstreut werden; das gilt nicht bloß für Infektionsstoffe, sondern überhaupt für alle, auch für ganz harmlose Bakterienarten, seien es Gärungserreger, Wasserkeime o. a. Nichts darf auf den Boden geworfen werden, selbst nicht ein abgebranntes Streichholz. Mit Saprophyten muß gerade so vorsichtig verfahren werden, als wären es die gefährlichsten Krankheitserreger, denn wer im einen Fall nicht reinlich arbeitet, tut es auch im andern nicht.

Im Laboratorium dürfen keine Speisen eingenommen, Finger oder Etiketten nicht an der Zunge befeuchtet werden.

Raucher legen ihre Zigarren so hin, daß der brennende Teil auf einer Unterlage ruht, während das Mundstück frei in die Luft ragt. Bei Arbeiten mit den Erregern gemeingefährlicher Krankheiten ist das Rauchen überhaupt verboten. Bei anderen Arbeiten sei es nur gestattet, solange es sich nicht um infektiöses Material handelt, oder solchen Personen, bei denen man die erforderliche Einsicht, Vorsicht und Gewissenhaftigkeit voraussetzen darf.

Reinlichkeits- und Ordnungssinn werden nicht besser geübt als in einer bakteriologischen Arbeitsstätte. Für Anfänger möge ein Sprüchlein an der Wand festgenagelt sein, das die erwähnten und ähnliche Regeln zusammenfaßt, einschärft und lebendig erhält:

Nach Gebrauch kommt jedes Stück
Rein an seinen Platz zurück.

Digitized by Google

Zusammenstellung und Wertverzeichnis

der für bakteriologische Arbeitsstätten I., II. und III. Ordnung*) erforderlichen Einrichtungsgegenstände und Chemikalien.

Einrichtungsgegenstände.

Gegenstände	Mk.	Ordnung I	II	III
Asbestplatten 2 mm dick, 1 qm	5.—	1	½	¼
Apparat für Anaerobiose nach Maaßen	25.—	2	1	—
Bänkchen für Platten aus Blech, 10 Stück	3.—	20	10	10
Barchent, 1 m	0.45	—	—	—
Becher zum Einstellen der Kulturröhren von Glas	0.15	50	20	10
Bechergläser s. Glas (Kochbecher).				
1 Satz zu 12 Stück hohe Form ohne Ausguß	4.—	—	—	—
„ „ mit „	5.—	—	—	—
Bindfaden (Schnur), stärker und dünner, 100 g	0.60	1	½	—
Blei, altes, 1 kg	0.40	10	5	2
Blockschälchen	0.25	20	20	10
Deckel dazu von Spiegelglas	0.10	20	20	10
Brenner für Gas				
Kochbrenner der Fig. 90, S. 80	7.—9.—	2	2	1
Einbrenner mit Luftregulierungshülse	1.60	3	2	—
„ „ Sparflamme nach Landmann	5.—	3	2	2
„ „ Stern und Schornstein	2.30	1	—	—
Gebläselampe	12.—	1	—	—
Kanonenbrenner für Dampfsterilisatoren etc.	9.—	1	1	—
Kronenbrenner neuester Konstruktion	6.60	3	2	1
Mikrobrenner für Brütschränke	6.—	—	1	—
„ nach Reischauer	1.25	2	1	1
Schmetterlingsbrenner z. Biegen von Glasröhren	2.50	1	—	—
Sicherheitsbrenner nach Lautenschläger mit Glimmerzylinder und Halter	24.50	2	1	—
Brenner für Spiritus von Glas, 200 g Inhalt	1.75	—	—	—
„ „ „ „ Messingblech, 100 g Inhalt	3.—	—	—	—
Brütschränke von Kupfer				
großer, doppeltüriger 80 : 60 : 50 cm	695.—	—	—	—
mittlerer Größe 60 : 50 : 40 cm	400.—	1	—	—
kleiner, stehende Form 38 : 25 : 25 cm	198.—	—	1	—
Brütschrank, Größe 50 : 40 : 28 cm	275.—	1	—	—
ganz einfach aus Kupferlegierung, Größe des Innenraums 20 : 20 : 20 cm, komplett mit Thermoregulator, Brenner, Thermometer und Brennerschiene	49.—	—	—	1
Brütschrank, sog. kalter, für Gelatinekulturen, Innenraum 50 : 40 : 28 cm, mit automatischer Kühlvorrichtung	580.—	1	—	—
Büchsen z. Sterilisieren der Pipetten, 400 mm lang	3.50	2	1	—
„ „ „ „ Doppelschalen nach Pfuhl	15.—	1	—	—
Bürsten zur Reinigung der Hände	0.20	4	2	2
„ „ „ „ Reagenzgläser	0.35	10	5	5
„ „ „ „ Kolben	0.50	6	—	—
Bürstenkasten aus emailliert. Eisen	1.50	1	—	—

*) Als I. Ordnung ist ein selbständiges Laboratorium ohne besonders kostspielige Einrichtungen oder bedeutenden Tierverbrauch gedacht, als II. Ordnung eine Angliederung an ein klinisches, pathologisch-anatomisches oder ähnliches Institut, die III. Ordnung berücksichtigt den Bedarf eines prakt. Arztes oder Tierarztes, z. B. in einem kleinen Krankenhaus oder dergl.

Digitized by Google

Gegenstände	Mk.	Ordnung I	II	III
Deckgläser, quadrat. 18 mm Seite, 100 Stück	1.80	10	5	3
„ „ 22 „ „ 100 „	3.20	1	—	—
Destillierapparat f. Wasser, 20 l Inhalt	350.—	1	—	—
„ „ Alkohol, 10 l Inhalt	280.—	—	—	—
Dialysator nach Graham, mittlere Größe	3.40	1	—	—
„ „ Proskauer (Lautenschläger)	8.—	1	—	—
Diamant zum Schreiben auf Glas	3.—	1	1	—
„ „ Schneiden von Glas	15.—	1	—	—
Drahtdreiecke verschiedener Größe	0.30	3	3	2
Drahtnetze 1 mm Maschenweite als Unterlage für Kolben etc. beim Kochen, 1 qm	6.—	1	½	½
Drahtnetze in Glockenform gegen Fliegen, ca. 34 cm Dchm.	1.—	1	1	1
Dreifüße von Eisen 18 : 10 cm	0.80	1	1	1
„ „ „ 21 cm (Höhe) : 11 cm (Ringdurchmesser)	1.—	1	1	1
„ „ „ 24 : 14 cm	1.25	1	1	—
Dreiwegstücke von Glas, Schenkel 5 cm lang, 7 mm weit	0.25	2	1	1
Eisschrank, einfach Nr. 4 oder 3	68.—50.—	1	1	—
„ mit glasierten Kacheln innen bekleidet (S. 74)	180.—	—	—	—
Etiketten assortiert (ev. selbst zu bereiten, s. S. 28)	3.—	—	—	—
Exsikkator nach Scheibler:				
13 cm Durchmesser mit Drahtnetzeinlage	2.85	2	1	1
15 „ „ „ seitlichem Tubus und eingeschliffenem Hahn mit Porzellanplatte	9.—	1	—	—
Farbstifte (Fettstifte) 1 Stück	0.30	10	5	3
Färbegestell nach L. Heim	9.—	2	1	1
Feilen, eine Auswahl von	3.—	1	1	—
Filter nach L. Heim für Asbest	9.—	2	1	—
„ „ Berkefeld aus Kieselgur	3.—4.—	—	—	—
Reservekerzen dazu	0.75	—	—	—
Druckapparat dazu nach Chamberland-Heim	170.—	1	—	—
Filter mit bekanntem Aschegehalt 9 cm Dchm. 100 Stück	2.90	1	—	—
Filtriergaze für Fleisch pro Meter	0.75	—	—	—
Filtrierpapier, besseres Ia, 100 Bogen (Buch)	0.80	1	½	½
„ geringeres II, Buch	0.50	1	½	½
Filtriertücher, Stück	0.60	—	—	—
Fleischhackmaschine, größer oder kleiner	9.—12.—	1	1	—
Fleischpresse für 2 l	15.—	1	—	—
Gärungsröhrchen, V-förmig	0.20	15	6	—
Gasentwicklungsapparat nach Kipp, 2 l mit 2 Waschflaschen	27.—	2	1	—
Gestelle für Farbfläschchen u. s. w.	5.—	2	1	1
„ „ Reagenzgläser zu 12 Stück	0.80	10	5	2
„ „ „ „ 24 „	1.50	6	3	1
„ „ kleine Reagenzgläser zur Präzipitation	1.50	2	1	1
„ mit Kistchen zur Aufbewahrung der Sammlungsreinkulturen	4.—	5	2	—
„ zum Auflegen der Präparate	0.60	2	1	—
Glasbänkchen aus Platten 5 : 14 cm mit Leisten	0.17	50	30	10
Glasbecher, gewöhnliche Schoppen- oder ½ l-Gläser zum Einstellen der Reagenzröhrchen	0.25	10	10	4
Glaskochbecher, 1 Satz zu 12 Stück, hohe Form ohne	4.—	2	1	½
„ hohe Form mit Ausguß	5.—	—	—	—
Glaszylinder mit Deckel zum Auffangen des Blutes von Schlachttieren 40 : 8 cm	2.25	4	4	4
Transportkorb dazu (s. S. 99)	5.—	1	1	1
Glaszylinder mit eingeschliffenen Griffstopfen 20 : 8	1.25	4	2	—
16 : 7	0.90	3	1	1
10 : 4	0.65	10	10	—
10 : 3	0.45	10	10	—

Digitized by Google

Gegenstände	Mk.	Ordnung I	II	III
Glaskelche (Spitzgläser oder Reagierkelche 150 cm mit Ausguß	0.50	5	3	2
Glaskolben, Inhalt 2 l	0.70	3	1	—
„ 1 l	0.50	6	5	2
„ 3/4 l	0.40	10	5	2
„ 1/2 l	0.35	10	5	—
„ 300 g	0.25	10	5	3
„ 100 g	0.20	50	20	10
„ 60 g	0.15	10	—	—
mit flachen Boden (Erlenmeyer), Inh. 100 ccm	0.20	50	20	10
„ 60 „	0.15	20	10	10
Glasrundkolben aus schwer schmelzbarem Glase, Inh. 500 ccm	0.45	3	—	—
„ 150 „	0.30	3	—	—
„ 60 „	0.20	10	—	—
Glasperlen, kleine, 100 g	0.40	2	—	—
Glasplatten für Kulturen 9 : 12 cm	0.10	100	50	50
„ große, quadratisch 35 cm Seite, 3/4 cm dick	1.50	2	1	—
„ milchweiße, quadratisch 150 mm Seite	0.50	2	2	1
„ schwarze, quadratisch 150 mm Seite	0.50	2	2	1
Glasröhren (Biegeröhren), verschied. Weite 1 kg	2.—	2	1	1/2
„ zur Blutentnahme nach Hauser (S. 99), 10 Stück	0.50	—	—	—
dazu passende Büchse zum Sterilisieren, 1 Stück	9.—	—	—	—
Glasdoppelschalen für feuchte Kammern, 22 cm Dchm. der oberen, mit Knopf	2.20	3	1	—
Desgl. ohne Knopf, untere etwa 7 cm hoch	1.60	10	6	3
Desgl. für Kulturen, Petrische, Deckelschale 10 cm	0.45	50	30	20
Glaszylinder mit aufgeschraubtem Deckel 1/2 l Inh. 10 St.	4.50	—	—	—
Glasflaschen, gewöhnliche Medizinflaschen: Inhalt 5—6 l	0.80	6	—	—
3 l (für Spiritusreste u. dergl.)	0.45	3	2	1
1 l	0.23	25	10	2
1/2 l	0.17	10	5	2
1/4 l	0.10	6	3	3
100 ccm	0.07	30	15	10
„ mit Patentverschluß (s. S. 87) 1/2 l Inh. 10 St.	2.25	10	10	—
150 ccm Inh. 10 St.	1.25	20	10	10
„ mit eingeschliffenen Griffstopfen und engem Hals, 1 l Inhalt	0.80	20	10	3
3/4 l „	0.70	5	—	—
1/2 l „	0.55	10	5	—
1/4 l „	0.40	10	5	5
150 g „	0.35	50	30	10
„ mit eingeschliffenen Griffstopfen und weitem Hals 1 l Inhalt	1.—	5	2	1
Inhalt 1/2 l (Pulverflaschen)	0.75	5	—	—
„ 100 ccm mit Griffstopfen	0.35	20	10	5
„ 60 „ „ Deckelstopfen	0.30	20	10	5
„ mit eingeschliffener Pipette und Gummihütchen für Farbstofflösungen, 60 ccm	0.55	15	10	—
„ einfach mit Pipette für Farblösungen	0.30	—	—	10
„ braune, mit eingeschliffenen Stopfen, 1 l	0.88	5	2	—
„ „ „ „ „ 150 g	0.35	4	2	—
„ nach Maaßen (s. S. 87)	2.50	1	—	—
„ Woulffsche Flasche, 1 l	1.50	2	—	—
1/2 l	1.—	2	—	—
„ für Sublimat	1.50	2	—	—
Glasglocke, braun, fürs Mikroskop	6.50	1	1	—
„ zur Bedeckung von Präparaten, weiß, etwa 10 cm hoch und 14 cm Dchm.	2.50	2	1	—

Digitized by Google

Gegenstände	Mk.	Ordnung I	II	III
Glasglocke, etwa 8 : 15 cm	1.50	2	1	1
Glashahn, 1 mm Bohrung	1.50	2	1	—
Glasdoppelschalen nach v. Drigalski, 20 cm Dchm.	1.30	50	20	10
„ für Kartoffelscheiben und andere Zwecke, Durchmesser der oberen Schale 4—6 cm	0.45	10	—	—
Glasspatel nach v. Drigalski	0.20	20	10	10
Glasstäbe verschiedener Dicke, 3—11 mm, 1 kg	2.—	2	1	½
„ aus Bleiglas (Rubinglas), 100 g	0.50	1	½	—
Glaswanne, rechteckig, 20 : 12 : 11 cm	3.50	1	—	—
18 : 15 : 3 cm	2.—	1	—	—
20 : 4 : 3 cm	0.90	1	—	—
Glaswolle, 10 g, Nr. 1	0.80	1	½	—
Glimmerzylinder für Brütschranklampen	1.—	2	1	—
Glimmerplättchen, quadratisch, 65 mm Seite	0.40	5	2	—
Granaten, böhmische, 1 kg	5.—	½	½	—
Gummidoppelgebläse, klein	3.50	2	1	—
Gummihütchen für Farbstoffgläser, 10 Stück	0.75	20	10	—
Gummikappen, hohe Form, 10 Stück	1.—	50	25	10
Desgl. flache Form, 10 Stück	0.80	50	25	10
Gummischläuche, verschiedener Stärke und lichter Weite, graue (Gasschlauch), 1 m	1.40	10	5	2
schwarze, enge, 1 m	1.20	4	2	1
„ weite, 1 m	2.20	2	1	—
Gummistopfen (nicht durchlöchert):				
große 30 : 30 (25) mm	0.60	10	5	—
kleine 21 : 20 (12) mm	0.20	50	20	5
jede Bohrung 4—5 Pfg.				
Handtücher, das Stück	0.90	10	10	10
Harnprober nach Vogel mit 2 Spindeln	2.—	1	—	—
Holzklötze als Untersätze (Abfälle von Tischlerarbeiten).				
Desgl. von Eichenholz 17 : 7 : 4 cm mit 3 cm tiefen Löchern von 6 mm Weite für Platinnadeln	0.80	3	2	1
Instrumente, chirurgische:				
Doppelhäkchen	2.25	2	—	—
Häkchen, scharfe	1.50	4	—	—
Kanülen, stärkere, 54—74 mm lang	0.80—1.20	3	—	—
„ nach Casper zur Blutentnahme	3.50	—	—	—
„ zur Blutentnahme, einfach, mit Aluminiumansatz	1.50	—	—	—
Katheter, elastische, schwäch. Nummern	0.70	3	—	—
Nadelhalter	6.50	1	—	—
Nadeln, gekrümmte	0.30	10	3	—
Pinzetten, anatomische, große, 20 cm lang	2.50	1	1	—
„ „ gewöhnliche	1.30	10	5	3
„ „ mit feiner Spitze	1.50	10	5	2
„ sog. Augenpinzetten	2.30	1	—	—
„ Haken-, feinste	2.50	1	—	—
„ zur Blutstillung, kleine	2.50	1	—	—
Unterbindungsnadeln, kleine	2.—	2	—	—
Scheren, gerade, große und kleine	2.20	3	2	1
„ gekrümmte	2.50	1	—	—
Seidenfäden, mittlere Dicke, 10 g	0.70	1	1	—
Skalpelle verschied. Größe mit Metallheft	2.—	6	3	3
Sonde, Hohl-	1.—	1	1	—
„ Oehr-	0.65	1	—	—
Starmesser	2.—	1	—	—
Sterilisator für Instrumente (S. 64)	40.—	1	—	—
Abziehstein für die Messer, gelb, belgisch	3.—	1	—	—
„ billiger	1.25	—	1	—

Digitized by Google

Gegenstände	Mk.	Ordnung I	II	III
Josephpapier, 100 Bogen	0.90	—	—	—
Irrigator aus emailliertem Blech	2.—	—	—	—
Kartoffelbürste	0.50	2	1	1
Kartoffelmesser mit Bleibeschwerung	0.30	5	3	3
Kartoffelsack	0.20	1	1	—
Kautschukwaren s. Gummi.				
Kistchen, leere Zigarren-, verschiedener Größe.				
Kochkolben, Kochbecher s. Glas.				
Kohle, Holz-, für Lötrohrversuche	0.20	1	—	—
„ zum Sprengen von Glas (Sprengkohlen), 10 Stück	0.75	1	1/2	1/2
Korke, verschied. Größe, 100 Stück	7.50	1	1/2	1/2
Korkbohrer von Messing (12 Stück) und Schärfer	6.75	1	1	1/2
Korkpresse	1.75	1	—	—
Korkzieher	0.75	1	—	—
Krug für Wasser von Steingut, Inhalt 3—4 l	0.70	—	—	—
Lederlappen, Fensterleder, 1 Stück	1.50	1	1	—
Leinwand, alte.				
Leiter, Stufentritt, Leiterstuhl od. dergl.	8.—	1	—	—
Löffel, Doppellöffel aus Bein für Pulver	0.50	2	1	—
„ zum Schmelzen von Blei	0.70	1	1	—
Lötkolben	1.75	1	—	—
Lötrohr	0.85	1	—	—
Lötzinn und Salmiak dazu	1.—	1	—	—
Wasserstrahlgebläse mit Metallzylinder und Verschraubung	28.—	—	1	—
Luftpumpe; s. Wasserstrahl- von Blech mit Wasserstandsrohr	16.50	1	—	—
„ desgl. mit Manometer und Glaszylinder	75.—	1	—	—
„ Metall- mit Rückschlagventil	12.—	1	1	—
„ von Glas	3.50	—	—	—
Meßgefäße:				
Büretten mit Glashahn, 50 ccm 1/10 geteilt	4.20	4	2	—
„ „ Quetschhahn 50 ccm 1/10 und 2/10 ccm get.	2.75	2	2	2
„ „ Schwimmer nach Erdmann	0.50	2	—	—
„ zur Abfüllung der Nährmittel nach Heim	5.50	1	1	—
Bürettenhalter	9.—	1	1	—
Meßzylinder mit doppelter Zahlenreihe zu 1000 ccm	5.50	1	1	—
„ 500 „	3.—	2	1	1
„ 200 „	1.80	1	1	—
„ 100 „	1.85	3	2	1
„ 50 „	1.10	2	1	—
Meßgefäße (Mensuren) in Becherform mit Henkel von Porzellan, 1 l	2.50	1	—	—
Meßgefäße in Becherform aus starkem Glase, 50—60 ccm Inhalt in je 5 ccm get.	0.70	10	5	3
Meßflaschen nach Stohmann m. 1 Marke, 500 ccm Inh.	1.30	2	1	—
Meßkolben mit 1 Marke zu 1000 ccm	1.50	1	1	—
„ 300 „	0.90	3	—	—
Pipetten, Vollpipetten mit 2 Marken zu 100 ccm	1.10	2		—
„ 50 „	0.75	2	1	—
„ 25 „	0.65	2	1	—
„ 20 „	0.60	2	—	—
„ 10 „	0.45	6	2	2
„ 5 „	0.40	2	2	—
„ 2 „	0.35	2	2	—
„ 1 „	0.30	10	5	3
„ Gestell dazu	5.—	1	—	—
Pipetten, Meßpipetten für Wasseruntersuchung, 1 ccm geteilt in 1/10, 2 Marken	0.50	20	10	10
für feine Messungen 1 ccm in 100 Teile	0.80	2	2	2

Digitized by Google

Gegenstände	Mk.	Ordnung I	II	III
Pipetten ohne jede Marke, 20 cm lang	0.10	5	2	2
Sicherheitspipetten zu 100 ccm s. S. 25, Fig. 51	2.20	3	1	1
Giftpipetten nach A. Meyer	0.75	1	—	—
Metermaß auf Band	0.30	1	1	—
„ „ Holzstab	1.—	1	—	—
Mikrotom nach Becker	330.—	1	—	—
„ einfaches Jungsches, Studentenmikrotom mit Einschnappvorrichtung	45.—	—	1	—
Mull (Musselin), 1 m	0.20	5	5	2
Nachtlichte, 1 Schachtel	0.50	—	—	—
Nadelhalter nach Kolle	1.—	8	4	3
Nadeln, Näh- (stärkere zu Präp.-Nadeln), 100 g	0.15	2	1	1
Steck-, starke und feine (Insektennadeln) 100 g	0.50	1	1	—
Tuch-, für Mäusesektionen, 12 Stück	0.10	24	24	12
Versicherungsnadeln	0.05	10	5	3
Nivellier- und Kühlapparat mit Dosenlibelle	16.80	1	1	—
Objektträger aus reinem, weißen Solinglas mit ungeschliffenem Rand, 70 : 20 mm, 100 Stück	1.50	5	3	1
mit geschliffenen Kanten, 100 Stück	2.30	2	1	½
mit rundem Ausschliff (hohle Objektträger), 10 Stück	1.50	5	2	1
mit rundem Loch in der Mitte, 10 Stück	2.—	1	—	—
nach F. E. Schultze, Stück	1.60	1	—	—
Oel, Knochen-, säurefreies, Flasche	0.50	2	1	—
Oesenbieger nach Czaplewski, 1 Satz	5.—	1	1	—
Operationsbretter s. Tiere				
Papier, Packpapier, 1 Buch	0.90	1	½	—
Pergamentpapier, 1 kg	2.—	½	¼	—
Paraffinwinkel	3.—	1	—	—
Paraffinschrank, größerer, komplett mit Zubehör	280.—	—	—	—
„ kleinerer	65.—	1	1	—
Pinsel, Haar-, mittlerer Größe	0.10	20	10	5
Pinzetten nach Cornet	1.50	6	4	2
„ „ Ehrlich (Blutpinz.)	1.50	3	1	1
„ „ für Objektträger, s. S. 17, Fig. 20	1.50	1	—	—
„ Unterbindungs-	5.—	2	—	—
Pipetten s. Meßgefäße				
Platindraht, 1 g	3.60	2	1	—
Platiniridiumdraht, dünn und stark	3.60	3	1	1
Platintiegel mit Deckel, ca.	50.—	1	—	—
Präparatenmappen in Tafelform	0.50	30	10	2
Presse, hydraulische, nach Buchner, komplett	750.—	—	—	—
Putzpomade, 1 Schachtel	0.30	1	1	—
Quetschhähne, Klemmen-	0.25	10	5	—
Schrauben-	0.65	1	—	—
Doppelschrauben-	0.75	4	2	—
gewöhnliche, 65 mm lang	0.35	6	4	—
„ 80 „ „	0.45	2	2	1
Rasiermesser	3.50	1	—	—
Reagenzgläser, 160 : 16 mm, 100 Stück	3.80	10	5	—
150 : 12 „ 100 „	3.—	3	2	1
80 : 8 „ 100 „ für Präzipitation	2.50	1	½	½
für Blutentnahme, 195 : 20 mm, s. S. 99	6.50	—	—	—
von stärkerem Glase mit flachem Boden zur kolorimetrischen Wasseruntersuchung, 250 : 25 mm	0.90	10	—	—
zur Anaerobiose mit Pyrogallol, 10 Stück	4.50	30	20	10
Gestell dazu	1.—	1	—	—
Halter von Messing	0.50	2	1	—
Reibeisen	1.20	1	—	—

Digitized by Google

Gegenstände	Mk.	Ordnung I	II	III
Röhren von Blei als Ersatz für Gummischlauch, bei längerer Leitung 8 mm Dchm., 6 mm im Lichten, 1 m	0.50	5	5	—
aus biegsamem Rohr (Patentspiralschlauch) lfd.m.	9.—	2	1	—
Rostpapier (Schmirgelpapier), grobes und feines, 1 Blatt	0.04—0.08	4	3	—
Rückflußkühler nach Liebig, Länge 60 cm	2.50	1	—	—
Rückschlagventil zur Wasserstrahlpumpe	1.50	2	1	—
Kühlröhren dazu (1 als Reserve), 80 cm lang	0.90	2	—	—
nach Allihn, 40 cm lang, aus 1 Stück	2.—	1	1	—
Schalen, Abdampf-, von Porzellan, halbtief, ohne Rand mit Ausguß 30—45—60—90—120—160—240 ccm Inhalt	3.95	1	1	1
Dieselben dazu von 320—650—820—1600 ccm	7.60	1	—	—
Reib- (Mörser), 12 cm Dchm. mit Pistill	1.25	3	2	—
„ von Achat, 75 mm	8.—	1	—	—
Sandbadschale von getriebenen Eisen, 200 mm	1.—	1	1	—
Glühschälchen mit Deckel von 3 cm	0.25	3	2	—
„ „ „ „ 4 „	0.35	3	1	—
Scheren, 1 große Papierschere	3.50	1	1	—
1 kleinere	2.50	1	1	1
Schmelztiegelzange, schwarz lackiert	0.60	1	1	1
„ vernickelt	2.—	1	—	—
Schreibtafel an die Wand, schwarz, 80 cm i. Qu.	6.—	1	—	—
Schreibwaren, Schreib- und Konzeptpapier, 1 Buch	0.50	5	5	2
Linienblatt, Federn, Halter, Bleifedern, Lineal (mit Zentimeterteilung), Löschpapier, blaue Tekturbogen, Garnitur ca.	4.—	1	1	½
Stift zum Schreiben auf Glas und Porzellan	0.35	5	3	2
Tinte und Tintenfaß	1.60	1	1	1
Schrote zum Tarieren, 1 kg	0.90	1	½	—
Schüsselchen für Abgangwässer b. Färbungen	0.45	2	2	2
Seife oder Seifenspiritus	1.—	1	1	1
Seifenbehälter, asept. nach v. Bergmann	2.—	1	—	—
Seifenschüsselchen	0.50	—	1	1
Siegellack, 1 kg	1.40	1	¼	¼
Signieraparat von Pospisil	20.—	—	—	—
Spatel für mikroskopische Schnitte	1.20	2	1	—
Spektralapparat nach H.W. Vogel m. Universalstativ im Etui	83.—	1	—	—
Spritzen mit Asbeststempel, 2 ccm Inhalt	5.—	5	2	—
„ „ „ 5 „ „	6.—	3	2	—
„ „ „ 10 „ „	7.50	3	2	1
Spritzflaschen zum Abspülen (Fig. 28, S. 20)	1.50	4	2	2
„ für Alkohol	3.25	1	—	—
Stativ von Eisen, Stab zentral, 13 mm dick, 80 cm hoch	2.30	3	2	1
Doppelmuffen	1.—	6	6	2
Doppelmuffen, beweglich	1.75	2	—	—
Klemme anschraubbar	1.75	2	1	—
„ Form b der Fig. 61, S. 28	1.50	3	3	2
„ „ c „ „ 61, „ 28	1.80	2	1	—
„ „ d „ „ 60, „ 28	2.50	1	—	—
Ringe	1.—	3	3	1
Stativ von Holz auf Holzplatte, zweiarmig	2.25	1	—	1
Sterilisationsapparate: für trockene heiße Luft:				
einfache Konstruktion, 18 : 16 : 24 cm	18.—	—	—	1
dazu Gestell auf 4 Füßen von Bandeisen	4.50	—	—	1
Eisenschiene zum Tragen des Brenners	1.25	—	—	1
und Drahtkorb (rechteckig)	2.—	—	—	1
verbesserte Konstruktion nach Lautenschläger, Größe 30 : 23 : 30 cm, komplett	80.—	—	1	—
„ 45 : 28 : 28 „	95.—	1	—	—

Digitized by Google

Gegenstände	Mk.	Ordnung I	II	III
Sterilisationsapparate: für strömenden Dampf:				
nach Koch aus Kupfer, einfach mit 2 bedeckten Einsatzgefäßen, Thermometer und Gasbrenner	66.50	—	—	1
oder ganz aus Kupfer mit konischem Boden und konstantem Niveau, mit 2 Einsatzgefäßen, 50 : 25 cm	92.—	1	1	—
Dampftopf mit Ueberdruck nach Lautenschläger	120.—	1	—	—
Autoklaven für strömenden und gespannten Dampf, innen 60 : 40 cm vollständig (s. S. 69)	980.—	—	—	—
50 : 25 „	660.—	—	—	—
Passendes Thermometer	3.—	1	—	—
Einsatzgefäß mit Deckel und durchlochtem Boden	7.50	2	1	—
Drahteinsätze, offen, gewöhnlich (Rost)	1.40	2	1	1
Apparat zur diskontinuierlichen Sterilisation nach Heim	48.—	1	—	—
Streichhölzer, schwedische, 1 Paket	0.15	10	10	5
Streichriemen	4.50	1	1	—
Taschen aus Stahlblech:				
10 : 5 : 14 cm (ohne Henkel)	1.80	4	2	—
20 : 6 : 6 „ für Kartoffelmesser	1.80	1	—	—
21 : 4 : 3 „ „ Wasserpipetten	1.50	2	2	1
Temperaturtabellen für Tiere	6.—	100	50	—
Thermometer:				
„ —20 bis 250° Milchglasskala	3.—	2	—	—
„ desgl. Teilung an der Röhre	3.50	—	—	—
„ —10 bis +100° Milchglasskala	2.50	2	2	—
„ +30 bis +100° „ get in ½° m. lang. Stiel	7.—	2	1	—
„ Minuten zur Messung der Körperwärme von Tieren	3.—	1	1	—
„ Maximum- und Minimum- nach Six-Kapeller	12.—	—	—	—
Maximalthermometer für hohe Temperaturen zu Desinfektionsversuchen bis 150°	10.—	1	—	—
Thermoregulatoren nach L. Meyer:				
einfachere, auf 30—40° eingestellt	9.—	—	2	—
vollkommenere, „ 30—40° und auf 20 bis 25° eingest. je	24.50	2	—	—
einfachere, auf 50—70° eingestellt	9.—	—	—	—
vollkommenere, „ 50—70° und auf 20—25° eingest. je	24.50	2	—	—
desgl. aus Metall nach Lautenschläger	60.—	—	—	—
Hülse zum Schutz des Brütschrankes	1.50	3	1	—
Behälter für Frösche	8.—	—	—	—
Gläser für Mäuse mit beschwertem Deckel	1.50	12	6	4
Einmachgläser, 17 : 11 cm	0.25	20	10	5
Drahtnetze, runde, 21 cm, 3 mm Maschenw.	0.20	20	10	5
Käfige für Kaninchen und Meerschweinchen	30.—	2	1	—
Käfige für Mäuse, Doppelkäfig	18.—	4	3	1
Mäusefalle	0.80	—	—	—
Operationsbrett für Kaninchen, Katzen, Meerschweinchen	75.—	1	—	—
Operationstafel für Mäuse nach Kitasato	6.50	1	1	1
Operationstafel für Ratten	35.—	1	—	—
Sektionsbrett für Kaninchen, einfach, 60 : 37 cm	6.50	1	1	—
„ „ Meerschweinchen, 37 : 25 cm	3.—	1	1	—
„ „ Mäuse	0.50	3	2	1
Transportkäfige von Draht für kleinere Tiere	7.—	2	1	—
Transportkästen von Holz für Kaninchen etc.	25.—	1	—	—
Zange zum Halten der Mäuse, 23 cm lang	3.50	2	1	1
„ „ „ „ Ratten	6.—	1	—	—
Töpfe zum Kochen, grau oder blau emailliert, mit Deckel 18,5 : 22 cm	4.20	1	1	1
blau emailliert, 13 : 15 cm mit Deckel	2.—	1	1	1
„ 10 : 12 cm	1.—	2	1	1
dazu je 1 Blecheinsatz	0.50	4	3	2

Digitized by Google

Gegenstände	Mk.	Ordnung I	II	III
Töpfe, sog. Suppentopf, 15 : 12 cm	1.80	1	1	1
„ 10 : 10 „	1.20	1	1	—
Topf für Abfallstoffe von Ton, Inh. 15 l	3.—	2	2	1
Trichter, gewöhnlicher, von Emailblech, 15 cm Dchm.	1.—	1	3	—
von Glas 22,5 cm Durchmesser	0.90	1	1	—
20 „ „	0.70	1	—	—
15 „ „	0.45	3	2	1
14,5 „ „	0.35	2	1	—
12 „ „	0.30	2	1	—
10 „ „	0.25	4	2	1
8 „ „	0.20	2	2	—
5 „ „	0.15	10	10	5
Ablauftrichter, 23,5 cm Durchmesser	2.—	1	—	—
Einsatz in Trichter (Filterschutz) von Porzellan	0.50	2	1	—
Dampftrichter	35.—	—	—	—
Heißwassertrichter, 15 cm Dchm., mit Stativ	29.50	1	—	—
Warmwassertrichter, 15 cm, mit Dreifuß	10.75	1	1	1
Scheidetrichter, Inhalt ½ l	3.50	1	—	—
100 ccm	2.25	2	—	—
60 „	2.00	2	—	—
Trichterröhren	0.25	2	—	—
Trockenröhren (Absorptionsröhren)	0.60	4	—	—
Tropffläschchen (Patent-Tropffl.)	0.50	10	5	5
Uhrgläser von 40—55 mm Durchmesser	0.10	10	5	2
Untersätze von Porzellan für Flaschen (Bierglasuntersätze), 7—10 cm Durchmesser	0.20	20	10	2
15 „ „	0.25	20	15	4
Vakuumdestillierapparat nach Proskauer	60.—	1	—	—
„ einfach	30.—	—	—	—
Verbrennungsofen für Tiere	750.—	—	—	—
Wachskerzen	0.10	5	2	1
Wagen. Analysenwage zu 100 g Belastung, kurzarmig	180.—	1	—	—
dazu 1 Satz vergoldeter Gewichte bis 50 g	39.—	1	—	—
Wage von Mohr-Westphal zur Bestimmung des spez. Gew. v. Flüss., Nr. 2 für pharm. Zwecke	45.—	1	—	—
Säulentarierwage z. 3 kg Belastung, 1 cg angebend	50.—	1	—	—
Gewichtsatz 0,01—200 g	7.90	1	—	—
Stativwage mit Arretierungsvorrichtung, mit Gewichtsteller und Messingschalen an Messingbügeln (Katalog Lautenschläger Nr. 2248), 500 g Tragkraft	20.—	—	1	—
Stativwage (Kat. Lautenschläger Nr. 2247), 100 g Tragkraft	12.—	—	—	1
Tierwage für Kaninchen, Meerschweinchen	40.—	1	—	—
Gewichtssatz von Messing, 0,01—500 g in Holzkasten	12.—	—	1	—
do. 0,01—100 g in Holzetui	5.20	—	—	1
Tafelwage, oberschalige mit quadr. Messingschalen, 5 kg Tragkraft, gute Konstr.	18.—	1	1	—
Einzelgewichte: 500 g Messing	2.20	1	—	—
2 und 1 kg von Eisen, einfach, zus.	1.70	1	1	—
Wägegläschen	0.40	3	—	—
Wanne von Porzellan zum Auffangen von Gasen über Flüssigkeiten (für 5 kg Quecksilber)	3.85	1	—	—
Waschschüssel	1.10	1	1	1
Wasserbad, 20 cm Durchmesser, mit stetem Zufluß, Ringen und Dreifuß und konstant. Niveauhalter oder:	11.50	1	1	—
Wasserbad, konisches, mit Dreifuß und konstantem Niveau	28.50	—	—	—
Watte, entfettete (Wundwatte), 1 kg	3.30	4	2	1
Watte, nicht entfettete, 1 kg	1.80	5	2	1
Werkzeuge u. dergl., Auswahl 1, 2 und 3 zu 10, 25 und 36 Mk.	—	3	2	1

Digitized by Google

Gegenstände	Mk.	Ordnung I	II	III
Wischtücher, Stück	0.50	20	10	10
Zentrifuge mit Schutzvorrichtung zum Handbetrieb	120.—	—	1	—
„ „ „ klein, für Wasserbetrieb	75.—	—	—	1
„ „ „ für Motorbetrieb für 4 Gläser à 50 g einschließlich Motor	550.—	1	—	—

Chemikalien, K = 1000 g, H = 100 g, D = 10 g.

Chemikalien		Mk.	Ordnung I	II	III
Aceton (puriss.)	K	4.20	1000	1000	—
Aether „	„	4.80	1000	1000	1000
Aethylamin 33proz. Lösung	H	5.50	20	20	—
Agar-Agar in Stangenform	K	10.50	1000	500	—
„ „ Federseelenform	„	5.—	—	500	500
Alaun	„	1.30	250	—	—
Alkohol, versteuerter	„	1.70	5000	5000	3000
Alkohol, absolut. (selbst herzustellen nach S. 58)	„	4.20	—	—	—
Aluminiumsulfat	„	0.70	500	—	—
Ammoniak (Liqu. Ammonii caust.)	„	0.50	500	500	500
Ammoniumchlorid	„	1.—	100	—	—
„ oxalat	„	7.80	100	50	—
„ karbonat	„	1.55	100	—	—
„ laktat	„	15.—	50	—	—
Ammoniumsulfat	D	1.—	100	—	—
Amylalkohol	K	6.—	1000	—	—
Anethol (Anisöl), Schmelzpunkt bei 26° C.	K	28.80	200	—	—
Anilin (Anilinöl)	„	5.05	500	200	—
Asbest	„	3.—	1000	500	—
Asparagin	H	6.—	25	—	—
Asphaltlack I^a für Deckgläser	„	3.60	1000	—	—
Auramin	D	0.70	10	—	—
Azur I	„	60.—	—	—	—
Azur II	„	30.—	—	—	—
Azur II — Eosin	„	40.—	—	—	—
Baryumchlorid	K	0.85	200	—	—
„ hydrat	„	1.20	200	—	—
Benzin	„	2.40	500	—	—
Benzol	„	1.80	1000	500	—
Bismarckbraun	D	0.50	100	50	50
Bleiacetat	K	1.30	50	—	—
Bleinitrat	„	1.45	500	300	—
Brechweinstein	„	2.20	250	100	50
Celloidin Schering	1 Tafel	4.30	1	—	—
Chlorcalcium (granuliert)	K	3.—	500	250	—
Chloroform	„	3.30	1000	1000	1000
Chromsäure (schwefelsäurefrei)	„	5.80	50	50	—
Chrysoidin	D	0.60	10	—	—
Citronensäure	K	4.35	100	100	—
Cochenille 20 g	„	7.50	50	—	—
Collodium	„	3.—	500	500	500
Dahlia	D	0.75	10	10	—
Diphenylamin	H	2.15	50	25	—
Eisenchlorid, kristallis.	K	1.45	100	100	—

Digitized by Google

Chemikalien		Mk.	Ordnung I	II	III
Eosin B. A. extra (Höchst)	D	0.75	25	10	10
Erythrosin pur.	„	1.10	10	—	—
Essigsäure (Eisessig)	K	3.—	1000	500	250
Ferrosulfat	„	3.—	500	500	250
Fleischextrakt, Liebigsches	H	1.85	100	100	—
Fluorescein	D	0.30	20	10	—
Formalin (40proz. Formaldehydlösung)	K	3.85	1000	1000	500
Fuchsin	H	6.—	100	100	100
Gelatine I	K	5.—	2000	1000	1000
Gentianaviolett	H	5.40	100	50	50
Giemsalösung für die Romanowskyfärbung	K	30.—	100	100	100
Glyzerin (chem. rein)	„	3.—	1000	500	250
Glyzeringelatine nach Kaiser	H	1.10	50	50	20
Goldchlorid	1 g	2.10	1	—	—
Gummi, arabisches	K	8.40	1000	1000	500
Hämatein, kristall. (Hämateinammoniak)	10 g	6.65	5	—	—
Hämatoxylin, Delafields	K	10.—	100	—	—
Jod	H	4.95	25	25	10
Kalilauge (nach dem Arzneibuch)	K	1.20	500	500	250
„ , normale	„	1.20	—	—	—
Kaliumbichromat	„	1.45	500	250	—
„ bromid	„	7.60	250	—	—
„ chromat	„	2.40	30	—	—
„ hydrat (Stangen)	„	3.60	500	250	250
„ jodid	„	21.20	100	50	50
„ karbonat	„	0.60	200	—	—
„ nitrat	„	1.10	500	250	—
„ nitrit	„	5.30	100	—	—
„ permanganat (schwefelsäurefrei)	„	1.60	100	—	—
„ phosphat (sekundäres)	„	3.80	100	—	—
„ sulfocyanid	„	3.60	50	—	—
Kanadabalsam in Xylol gelöst, in Tuben	Tube	0.85	2	2	2
Karbolsäure, verflüssigte (Acid. carb. cryst. 100.0, Aq. dest. 10.0)	K	1.90	1000	1000	500
Karmin	D	0.85	10	10	—
Kieselgur	K	2.40	500	—	—
Kristallviolett B. Höchst	„	6.15	25	—	—
Kupferblech, dünn	K	9.60	500	500	—
Kupfernitrat	„	2.50	500	—	—
Kuprisulfat	„	2.15	500	200	—
Lackmoid (Merck)	D	0.45	10	—	—
Lackmus, reinster	H	2.40	100	—	—
Lackmusmolke (Kahlbaum)	K	3.—	1000	1000	—
Lackmuspapier, Streifen in Buchform, blau	10 Stück	1.95	10	5	2
„ von Dietrich Helfenberg, rot	10 „	1.95	10	5	2
„ Duplitestpapier	1 Bogen	1.10	2	1	—
Lackmustinktur (Kahlbaum)	K	2.10	1000	500	—
Lysol	„	3.25	500	500	—
Magnesiumsulfat	„	0.30	100	—	—
Malachitgrün I Höchst	25 g	2.—	25	25	—
„ 120 „	25 „	2.10	25	25	—
Marmorabfälle	K	0.25	2000	—	—
May-Grünwald's Farbstoff	D	4.20	10	—	—
Farblösung in Methylalkohol	H	2.—	100	100	—
Merkurichlorid	K	5.50	500	500	250
Metadiamidobenzol (Methaphenylendiamin)	D	0.70	10	10	—
Methylalkohol I	K	2.70	1000	—	—
Methylenblau medicinale Höchst	H	6.—	100	100	50

Digitized by Google

Chemikalien		Mk.	Ordnung I	II	III
Methylgrün	5 g	0.30	5	—	—
Methylorange	5 „	0.25	10	10	—
Methylviolett (Hexamethylviolett)	H	7.75	50	—	—
Milchsäure	K	6.80	50	50	—
Milchzucker, chemisch rein	K	1.80	500	—	—
Naphthylamin	K	2.15	25	—	—
Nährstoff Heyden	25 g	1.50	25	25	—
Natrium ameisensaures	K	4.80	100	50	—
„ chlorid, reines	„	0.90	500	500	500
„ hydrat (Stangen)	„	1.60	500	250	250
„ hyposulfit	„	0.25	1000	—	—
„ indigschwefelsaures	D	0.90	10	10	—
„ karbonat, krist.	K	0.30	1000	1000	1000
„ „ wasserfrei	„	1.10	—	—	—
„ „ gewöhnliche Soda	„	0.25	1000	1000	1000
„ phosphat	„	0.60	100	—	—
„ sulfat	„	0.60	100	—	—
„ sulfit	„	0.30	1000	—	—
Natronlauge, normale	„	1.50	—	—	—
Neßlers Reagens	H	0.40	100	100	—
Nutrose	100 g	1.95	500	100	—
Olivenöl	K	1.70	1000	500	250
Orcein	D	4.20	10	—	—
Origanumöl, echtes	H	3.80	50	—	—
Osmiumsäure in Röhrchen zu	½ g	4.45	1	0,5	—
Oxalsäure	K	1.60	250	250	—
Paraffin, festes (nach dem Arzneibuch)	„	2.50	500	500	500
„ „ Schmelzpunkt 42—44°	H	2.50	200	200	100
„ „ „ 62—64°	„	2.50	200	200	100
„ flüssiges	K	1.35	2000	1000	—
Pepton, trocknes, weißes von Witte	„	24.—	500	500	250
Phenolphthalein	D	0.40	10	10	5
Phosphorsäure	K	0.90	1000	250	—
Pikrinsäure	„	5.00	100	100	100
Pikrokarmin nach Weigert	H	1.10	100	100	100
Platinchlorid	10 g	18.—	2	2	—
Pyrogallussäure	H	1,80	500	250	250
Pyronin	5 g	0.60	5	—	—
Rosolsäure	K	9.—	10	10	10
Safranin	D	0.90	10	10	10
Salpetersäure	K	0.40	1000	1000	500
Salzsäure	„	0.30	1000	1000	500
Schwefelammonium (Darstellung durch Einleitung von Schwefelwasserstoff in verd. Ammoniak)	H	1.45	—	—	—
Schwefeleisen	K	0.95	1000	1000	—
Schwefelsäure	„	0.55	1000	1000	500
„ Normallösung	„	1.10	1000	1000	1000
Schwefelwasserstoff (Darstellung aus Schwefeleisen und Salzsäure im Kippschen Apparat)	K	1.20	—	—	—
Silbernitrat	H	7.80	100	50	25
Sublimatpastillen nach Angerer	1000 St.	17.—	1000	500	250
Sudan III	D	0.75	10	—	—
Sulfanilsäure	K	8.40	100	—	—
Tannin	„	5.00	1000	500	250
Tereben	H	0.85	100	—	—
Terpentinöl	K	1.80	1000	500	500
Thionin	10 g	3.60	5	—	—
Toluol	K	3.—	500	—	—

Digitized by Google

Chemikalien		Mk.	Ordnung I	II	III
Traubenzucker	H	1.20	250	250	100
Tropäolin 00	D	0.60	10	—	—
Tropon	H	0.80	500	250	—
Vaseline	K	1.50	500	250	250
Vesuvin	D	0.60	10	10	—
Viktoriablau 4 R.	„	0.90	10	—	—
Wasser, destilliertes	„	0.15	5000	5000	5000
Wasserstoffsuperoxyd (Perhydrol, E. Merck)	H	4.—	—	—	—
Wollschwarz	D	0.60	10	—	—
Xylol pur.	K	2.—	1000	1000	1000
Zink, chem. rein z. Wasserstoffentwicklung	„	2.—	1000	500	500
Zinkstaub	„	0.95	250	100	—

In den vorstehenden Zusammenstellungen ist ein Mikroskop nicht enthalten. Die Preise sind nicht zu niedrig angesetzt worden. Dazu kommen noch die Kosten für Verpackung und Verfrachtung, für Leitung von Wasser, Abwasser und Gas, sowie für Möbel, Wäsche und Schutzkleider. Fehlt Gas, dann muß man sich mit Petroleumkochern und Spiritusflammen behelfen (s. S. 510). Für Gas rechne man bei I 100 bis 130 cbm, bei II etwa 50 cbm monatlich. Den jährlichen Etat setze man zu $^2/_3$ des Anschaffungspreises an. Dieser beträgt nach einer Ausrechnung aus vorstehenden Verzeichnissen bei der

I. Ordng. f. Einrichtung M. 6184.65; Chemik. M. 326.75, zus. M. 6511.40
II. „ „ „ „ 1852.16; „ „ 184.25, „ „ 2036.41
III. „ „ „ „ 610.75; „ „ 88.22, „ „ 698.97

Somit wären für die erste Einrichtung eines Laboratoriums mit Gebrauchsgegenständen (außer den oben genannten, wie Mikroskop u. s. w.) und Chemikalien rund zu rechnen bei der

I. Ordnung 6600 M. und an jährl. Etat etwa 4000 M.
II. „ 2100 „ „ „ „ „ „ 1500 „
III. „ 700 „ „ „ „ „ „ 500 „

Digitized by Google

2. Erläuterungen zu den Mikrophotogrammen nebst Winken für mikrophotographische Aufnahmen.

Die Bilder sind mit dem großen mikrophotographischen Apparat von C. Zeiß und zumeist mit Zeißschen Apochromaten, einige mit Leitzschen Systemen aufgenommen worden. Genaueres über die Technik suche man in den einschlägigen Lehrbüchern und in Gebrauchsanweisungen der optischen Werkstätten. Die folgenden Mitteilungen sollen dazu noch einige Ergänzungen und Aufschlüsse bringen.

Mikroskop und Kamera. Auch mit einfachen Apparaten und mit gewöhnlichen achromatischen Linsen lassen sich gute Bilder erzielen. Vollends wenn man mit Lichtfiltern arbeitet, sind Apochromate nicht unbedingt erforderlich. Die Projektionsokulare, für die man eine längere Kamera nötig hat, müssen bei steigenden Abständen von der Mattscheibe weniger weit ausgezogen werden; der richtige Auszug ist der, bei dem die Begrenzung des Gesichtsfeldes, wenn man sie mit der Lupe auf der in die Kamera eingesetzten blanken Scheibe betrachtet, keine roten, braunen oder blauen Farbensäume zeigt, sondern vollkommen scharf und farbenrein verläuft.

Der Auszug der Kamera, mit dessen Länge die Stärke der Vergrößerung wächst, ist von mir stets vom Objekttisch des umgelegten Mikroskops ab bis zur Mattscheibe gemessen worden. Die erzielte Vergrößerung läßt sich nach den den Apparaten beigegebenen Gebrauchsanweisungen berechnen, genauer ist es, wenn man für jede Linsenkombination mit Hilfe eines Objektmikrometers und eines auf die Mattscheibe gelegten Maßstabes die Vergrößerung ermittelt, die man bei einem bestimmten Auszug der Kamera (und des Projektionsokulares) bekommt (s. S. 486, Anm.). Darüber lege man eine Tabelle an.

Lichtfilter. Zur Aufnahme aller gefärbten Präparate ist ein geeignetes Lichtfilter erforderlich, das keine blauen, sondern nur gelbgrüne (höchstens noch rote) Strahlen durchläßt. Die gelbgrünen Strahlen werden von den mit unseren gebräuchlichen Farben tingierten Objekten zurückgehalten, wodurch diese dunkel werden und entsprechend ihrer stärkeren oder geringeren Färbung mehr oder weniger unbelichtete Stellen auf der lichtempfindlichen Platte zurücklassen. Da die gewöhnlichen Platten für das neben den abzubildenden Objekten vorbeigehende grüngelbe Licht zu wenig empfindlich sind, muß man orthochromatische, mit Erythrosin sensibilisierte Platten verwenden, die ihre

Digitized by Google

größte Empfindlichkeit im Gelbgrün bei der Wellenlänge 570 bis 550 μμ haben.

Das Zettnowsche Lichtfilter besteht aus einer Lösung von Kupfernitrat 200 g und Chromsäure 20 g. Salz und Säure werden erst einzeln in etwa 1/4 l Wasser gelöst, dann gießt man die Lösungen zusammen und bringt die Flüssigkeit durch Wasserzusatz auf die Menge von 600 ccm. Es ist bei Aufnahme mit Sonnenlicht und elektrischem Bogenlicht unverdünnt zu verwenden, ja die Konzentration darf da sogar noch beträchtlicher sein. Hat man schwächere Lichtquellen, dann verdünne man es, damit die Expositionszeiten nicht zu sehr verlängert werden müssen. Anderseits soll man die Verdünnung nicht zu weit treiben, namentlich wenn es sich um die Aufnahme von blaugefärbten Präparaten handelt. Bezeichnet man die unverdünnte Lösung mit 0, dann ist 1 = eine mit gleichen Teilen, 2 = eine mit 2 Teilen Wasser verdünnte Lichtfilterlösung u. s. f.

Handlicher als die Flüssigkeit, für die man gut gedichtete Küvetten von etwa 1 cm Weite braucht, sind gefärbte Trockenplatten, z. B. eine ausfixierte photographische Platte, die ganz klar ist, und die man für etwa 10 Minuten in eine 2proz. Lösung von reinem Tartrazin legt; die Färbung ist richtig, wenn bei der spektroskopischen Prüfung alle blauen und blaugrünen Strahlen bis b, d. i. bis Wellenlänge 517 absorbiert werden. Für zartere Färbungen mit Methylenblau wird diese Tartrazinscheibe mit einer auf ähnliche Weise bereiteten, in 1promill. Bromeosinlösung gebadeten Platte kombiniert (s. E. Zettnow, Hdb. d. path. Mikr., Atlas S. 4 ff.).

Lichtquellen. Da Sonnenlicht zu inkonstant ist und einen Heliostaten erforderlich macht, nimmt man meistens künstliches Licht. Für schwächere Vergrößerungen reicht eine Petroleum-, wesentlich besser ist eine Auerlampe. Für stärkere Vergrößerungen, insbesondere für Aufnahmen mit der Oelimmersion, bei denen durch zu lange Exposition das Scharfbleiben des Bildes in Frage gestellt ist, muß man intensiveres Licht haben. Am hellsten ist selbstverständlich elektrisches Bogenlicht, doch ist auch Zirkon- oder Kalksauerstofflicht gut zu gebrauchen; ich benutzte in den letzten Jahren für diese Zwecke eine größere Nernstlampe von angeblich 150, in Wirklichkeit etwa 100 Kerzenstärke. Das Licht wird von der am Ende der optischen Bank aufgestellten Lampe mittels einer großen Sammellinse nach dem Kondensor des Mikroskops geleitet, oder man läßt die große Sammellinse weg und stellt die Lampe etwa 1/2 m vom Mikroskop entfernt auf. Besondere Aufmerksamkeit ist der genauen Zentrierung zuzuwenden, damit das Objekt so hell als möglich und völlig gleichmäßig beleuchtet ist, ohne daß das Flammenbild auf der Mattscheibe erscheint.

Platten. Der Besitz einer guten Plattensorte ist ein wichtiger Punkt für das Gelingen der Bilder. Wenn alles noch so sicher und genau für die Aufnahme vorbereitet ist, bekommt man doch oft ein wenig zufriedenstellendes Ergebnis, indem das Bild das, worauf es ankommt, zu flau anstatt glasklar auf schwarzem Grunde mit feinen Abstufungen der Lichter zeigt. Jetzt, wo die Fabriken bestrebt sind, möglichst hochempfindliche Emulsionen für Momentaufnahmen zu liefern,

Digitized by Google

ist das Material für mikrophotographische Zwecke immer ungeeigneter geworden; dazu kommt noch, daß manche als orthochromatisch bezeichnete Sorten dies nur in ungenügendem Maße sind, die sogenannten panchromatischen Platten lassen unsere Objekte selten klar erscheinen, es sei denn, daß man durch Zufall die Exposition auf die Sekunde richtig getroffen hat. Auch die Perutz-Vogelschen sogenannten Silbereosinplatten, die vor mehreren Jahren für unsere Zwecke noch recht gut verwendbar waren, sind später dafür zu überempfindlich geworden (seit etwa 2 Jahren habe ich keine mehr probiert). Wenn man unter Aufwand von viel Mühe und Zeit sucht, findet man hie und da eine Sorte, die den Anforderungen genügt, am ehesten unter den sogenannten Reproduktionsplatten, die für Aufnahmen mit längeren Expositionen von farbigen Gegenständen bestimmt sind. Man kann den Uebelständen teilweise dadurch ausweichen, daß man nicht allzu hochempfindliche gewöhnliche Platten orthochromatisiert: Man löst 1 g Erythrosin in 500 ccm Alkohol, gibt davon 5 bis 10 ccm auf 200 ccm destilliertes Wasser, filtriert und badet darin die Platten etwa 1 Minute lang bei vollkommener Dunkelheit. Zur Trocknung muß man die Platten in genügenden Abständen auf einem Holzbock in einen luftdurchlässigen, aber lichtdichten Kasten stellen. Allein das ist nur ein Notbehelf. Wer gute Bilder bekommen will, dem bleibt nichts übrig, als daß er sich seine Platten selbst herstellt, wie es Zettnow tut, der mich in freundschaftlicher und dankenswerter Weise in die Technik der Plattenbereitung eingeführt hat.

Entwickler und Entwicklung. Man nehme nur solche mit guter Deckung. Unübertroffen von allen Handels- und Geheimmitteln ist immer noch der Pyrogallolentwickler, z. B. wie ihn E. Zettnow (s. Eders Jahrb. f. Photogr. und Repr. Technik f. d. Jahr 1890) benutzt:

Pyrogallollösung:

Aq. dest. von 60 bis 70° Wärme 460 g
Acid. acetic. 5 ccm
Natriumsulfit 200 g. (Das schwefligsaure Natron soll durchscheinend, nicht mehlig überzogen sein.)
Umrühren bis zur Auflösung und filtrieren.
Pyrogallol 28 g.

Gibt eine Menge von 600 ccm. Diese Lösung hält sich selbst in bloß halbgefüllten, jedoch gut verschlossenen Flaschen viele Monate lang; im Winter soll sie nicht zu kalt stehen.

Sodalösung 10proz.

Zur Entwicklung mischt man 1 Teil Pyrogallollösung mit
2 Teilen Sodalösung und
3 Teilen Wasser.

Für eine Platte 9 × 12 reicht die Menge von 5 ccm Pyro, 10 ccm Soda, 15 ccm Wasser, für eine Platte 13 × 18 kommt man mit 8 : 16 : 24 aus.

In dieser Mischung entwickelt man die Platte bei vollständiger Dunkelheit (die orthochromatische Platte ist auch gegen rotes Licht sehr empfindlich) etwa 1½ bis 2 Minuten lang; gibt, wenn dann die Platte nicht zu sehr unterexponiert erscheint, einige Tropfen 10proz. Bromkalilösung zu und hört mit der unter Lichtausschluß weitergeführten Entwicklung nach im ganzen 6 bis 10 Minuten auf. Hierauf wird der Entwickler abgegossen, die Platte gut gespült und in eine öfters brauchbare Aluminiumsulfatlösung übertragen:

Aluminiumsulfat 8 g; dest. Wasser 1 l; Schwefelsäure 2 ccm.

Darin läßt man sie etwa eine Minute liegen, spült mit Wasser ab und kann

Digitized by Google

sie nun ans Tageslicht bringen, um sie auszufixieren, da man in der Dunkelkammer, namentlich wenn man dort zeitweilig Platten bereitet, kein Fixiernatron stehen haben soll.

Das saure Fixierbad:

Auf je 50 ccm einer Lösung von unterschwefligsaurem Natron (Natriumhyposulfit) 100 g in dest. Wasser 300 ccm kommen 5 bis 7 ccm einer Lösung von schwefligsaurem Natron (Natriumsulfit) 25 g; dest. Wasser 100 ccm; Salzsäure (1,12 spez. Gewicht!) 15 ccm.

Man läßt gehörig ausfixieren und hält dabei die Schale bedeckt, dann wäscht man sie ab und wässert sie mindestens eine Stunde, zur Beseitigung der Erythrosinfärbung sind viele Stunden erforderlich.

Unterbelichtete Platten werden mit dem bekannten Sublimatverstärker behandelt, überbelichtete mit Kaliumpermanganat abgeschwächt. In jedem Falle müssen sie zuvor gründlich in fließendem Wasser ausgewaschen worden sein.

Die **Reproduktion** der Bilder erfolgte in Autotypie, die genügende Schärfe gibt, wenn der Raster fein genug genommen worden ist. Die Brillanz der Zelloidinbilder wird freilich nicht erreicht. Um den Untergrund nahezu so hell zu bekommen, wie er auf den Originalen ist, muß auf Kunstdruckpapier gedruckt werden. Auf gewöhnlichem Papier leiden die Autotypien; zum Vergleich sei auf die wenigen in den Text aufgenommenen Mikrophotogramme verwiesen.

Irgendwelche Retusche ist auf den vorliegenden Bildern nicht gemacht worden, obgleich es füglich nichts auf sich hätte, wenn man einen störenden Fleck im Untergrund oder dergl. durch Abdeckung beseitigte. Nur an der Wahrheit dessen, was gezeigt werden soll, darf nichts geändert werden.

Die jeweilige Vergrößerung ist in den den Tafeln beigegebenen Erklärungen nur dann eingesetzt worden, wenn es nicht 1000fache war, bei der die meisten Bilder aufgenommen sind.

Tabelle zu den Mikrophotogrammen.

(Auswahl geordnet nach den verschiedenen Vergrößerungen.)

Lfd. Nummer	Präparat	Färbung	Vergrößerung	Apochromat	Okular	Okularauszug	Entfernung vom Objekttisch	Licht	Lichtfilter	Abblendung	Plattensorte	Belichtung
1	Pneumonie . .	v	1000	3	IV	2,2	103	N	T	1/2	Eigene Em. orth.	9′
19	Rotzbaz. . .	v	650	„	IV	3,2	78	Z	2	—	Schleußner geb. .	2′
70	Oidium . . .	—	500	„	II	5,0	102	N	T	1/2	Eigene Em. orth.	6′
74	Aspergillus . .	—	250	„	II	10,0	65	Z	—	1/2	Sandell	3″
75	Favus . . .	v	200	16	IV	2,1	110	N	T	1/3	Agfa Repr. orth.	12″
73	Mucor . . .	—	175	„	II	6,5	170	Z	—	1/3	Monkoven . . .	25″
11	Tetrag. Kol. .	—	100	„	IV	3,0	71	N	T	1/3	Eigene Em. orth.	30′
40	Enterit. „ .	—	65	„	II	9,0	79	A	—	1/3	Monkoven . . .	2′
28	Diphth. „ .	—	42	35	II	7,6	134	A	—	1/3	„ . . .	6′
59	Cholera „ .	—	35	„	II	7,0	104	A	10	eng	„ geb. .	9′
51	Milzbrd. „ .	—	20	„	II	10,0	74	A	4	1/2	Perutz orth. . .	5′
39	Kolibakt. „ .	—	10	70	—	—	93	A	4	1/2	„ „ . .	2′

A = Auer-, Z = Zirkonsauerstoff-, N = Nernstlicht (100 N. K.); T = Tartrazinscheibe; v = violett; Em = Emulsion; Repr. = Reproduktionsplatte; orth. = orthochromatisch; geb. = gebadet in Erythrosinlösung.

Digitized by Google

Autorenregister.

A.

Abba, Fr. 475. 490.
Abbe, E. 5.
Abel, R. 17. 157. 224. 366. 367. 431.
Albert, R. 234.
Albert, W. 234.
Albrecht, H. 164. 352.
Albrecht, P. 150. 154.
Alexander 366.
Altschüler, E. 493. 494.
Alvarez 388.
Amici 5.
Anschütz, R. 242.
Anzilotti, J. 109. 384.
Appel, O. 466.
Apstein, K. 474.
Arens, C. 148. 470.
Arloing, S. 293. 384.
Aronson, H. 334. 384.
Arpád, J. 386.
Aschoff, L. 250.
Auerbach, M. 374.
Aujeszky, A. 190. 389.
Axelrad, C. 210.
Axenfeld, Th. 361. 362.

B.

Babes, V. 133. 184. 358. 457.
Backhaus 466.
Baermann, G. 458.
Bail, O. 241.
Bang, S. 294.
Barker, L. F. 421.
de Bary, A. 187.
Basenau, F. 426.
Bassenge, R. 471. 473.
Bassu, E. 144. 225.
Baumann, E. 470.
Baumgarten, P. 326.
Beck, M. 371. 381. 382. 442. 469.
Becker, A. 337.
Beckström 58.
v. Behring, E. 194. 252. 261. 262. 264. 295. 300. 345. 348.
Beijerinck, M. W. 144. 221. 225. 226. 230.
Beitzke, H. 353. 373. 398.
Belfanti, S. 256.
Belser, J. 424.
Bendix, E. 208.
Beninde, M. 472.
Berckholtz 431.
Berger, F. R. M. 456.
Berger, M. 1.
v. Bergmann, E. 343. 357.
Berkefeld, W. 34.
Bertarelli, E. 375. 379. 391. 456. 457. 458. 459.
Besançon, F. 454.
Besredka 259.
Besser, K. 433.
Besserer, A. 419.
Biedert, Ph. 398.
Biginelli 225.
Biondi 213.
Bitter, H. 141. 232.
Bizzozero, G. 323.
Blumberg 179.
Blumenthal, J. M. 369.
Blunt 293.
Boas, J. 402.
Bockhart, M. 106. 343. 453.
Bofinger, H. 387.
Böhm, A. 48.
Böhme, A. 231. 407. 425. 426.
Bohne, W. 61. 353.
Boks, D. B. 170.
Boland, G. W. 340.
v. Bollinger, O. 312. 424.
Bolton, M. 109.
Bongert, J. 194. 346.
Bonhoff, H. 263. 373. 384. 406.
Booker, M. D. 442.
Bordet, J. 256. 257. 279.
Bosse, B. 104.
Bostroem 357.
Botkin, S. 153. 154. 228.
Bowhill, Th. 201.
Boyce, R. 357.
Braatz, E. 148.
Brabec, A. 331.

Digitized by Google

Bramann 343.
Brebeck, C. 315.
Brehme, W. 292.
Brieger, L. 220. 232. 237. 240. 258.
Brion, A. 410.
Bruce, D. 168.
Bruck, C. 261. 337.
v. Brunn, W. 192.
Bruns, H. 76. 348. 349. 350. 383. 400. 488.
Brunton, L. 233.
Buchner, E. 233. 234. 239. 313.
Buchner, H. 147. 167. 187. 188. 189. 217. 229. 232. 238. 239. 255. 293. 300. 313. 335. 408. 431.
Buday, K. 320.
Buerger, L. 182.
Bujwid, O. 231.
Bulloch 383.
Bumm, E. 98. 343. 448.
Bunge, R. 190. 201.
Bunte, H. 228.
Buschke, A. 457.
Busse, O. 314. 356.
Bussenius 365.
Bütschli, O. 183. 184. 186. 187.
Buttenberg, P. 224.

C.

Cahen, F. 223.
Cahn, A. 362.
Calamida, U. 375.
Cantani, A. jr. 382.
Carbone, T. 256.
Caspari, G. 188.
Castellani, A. 269.
Cathcart, E. 224. 234.
Cavazzani, E. 233.
Chamberland, C. 34.
Chantemesse 246.
Charrin, A. 340.
Chatin, A. 294.
Christian 489.
de Christmas, J. 452.
Chvostek, F. 319.
Ciaglinski 365.
Ciechanowski, St. 210.
Citron, J. 241. 426.
Clarenbach 68.
Claudius 52.
Claußen, R. 431.
Clemens, P. 411.
Cohn, E. 314.
Cohn, Ferd. 303. 310. 311. 313. 367.
Cohn, P. 453.
Cohnheim, P. 402.
Cole, J. R. 356.
Concetti, L. 103.
Concornotti, E. 496.
Conn, H. W. 232.
Conradi, H. 95. 96. 114. 125. 233. 240. 247. 269. 287. 311. 328. 410. 411. 415. 447. 460.
Coppen-Jones, A. 383.
Cornet, G. 17. 355. 496.
Courmont, P. 384.
Cowl 161. 460.
Coxwell, C. F. 164.
Coyon, A. 331.
Cramer, E. 207.
Czaplewski, E. 18. 44. 51. 94. 133. 161. 229. 246. 302. 334. 374. 393. 394. 396. 397. 398. 400. 460.
Czapski 6.

D.

Dahmen, M. 82. 391.
Davaine 303.
Davids 500.
Deeleman, M. 80. 103. 121. 209. 339.
Delépine, Sh. 400.
Delius, W. 382.
Denys, J. 248.
Deycke, G. 73. 105.
Dietrich, A. 185. 186.
Dieudonné, A. 250. 345. 376. 427.
Doebert 433.
Doerr, R. 341. 421.
Dombrowsky 421.
Dönitz, W. 161. 163. 238. 246. 263.
Douglas, St. 248.
Downes 293.
Dragendorff 237.
Dreyer, G. 53. 401.
v. Drigalski, W. 79. 86. 95. 96. 114. 125. 408. 414. 493.
Dubois, R. 221.
Ducrey, A. 453.
Duenschmann 30. 159.
Dunbar, W. 227.
v. Dungern, E. 246. 338. 409.
Dunham, E. K. 231.
Durham, H. E. 227. 253. 267.
Dutton 459.
Dworetzky, A. 399.

E.

Eberth, K. J. 406.
Eckardt, Th. 277.
Eckert, A. 442.
Ehrlich, P. 17. 25. 31. 39. 43. 55. 169. 231. 250. 251. 254. 255. 258. 262. 263. 372.
Eichholz, W. 472.
Eijkman, C. 489.
Eisenberg, Ph. 254. 421.
Eitel 509.
Ellermann, V. 373.
Ellis, D. 291.
Elsner 109. 281. 290. 302. 490. 505.
Emmerich, R. 235. 309.
Endo, S. 95. 415.
Eppinger, H. 312.

Digitized by Google

van Ermengem, E. 197. 198. 200. 201. 202. 428. 429. 430.
Ernst, P. 184. 319.
Escherich, Th. 403. 405. 442.
v. Esmarch, E. 35. 108. 120. 287. 296. 310. 368. 491.

F.

Fehleisen 332.
Fermi, C. 132. 144. 225. 232. 233.
Ficker, M. 19. 106. 121. 185. 217. 218. 230. 276. 284. 292. 330. 384. 385. 493. 494. 495. 497.
Finger, E. 326.
Finkelstein 403.
Finkler, D. 310. 363.
Fiocca, R. 190.
Fischel, F. 383.
Fischer, A. 58. 207.
Fischer, B. 215. 221. 301. 315. 482.
Fischer, H. 332.
Fischer, K. 337.
Fischer, T. 375.
Fischer, W. 457.
Fischl, R. 213. 283.
Fischoeder, F. 345.
Flesch, M. 359.
Flexner, S. 421.
Flügge, C. 302. 360. 374. 427. 469.
Ford, W. 253.
Forné, F. 301.
Fornet, W. 431.
Forster, J. 37. 90. 193. 215. 221. 346. 347. 409. 466.
Förster 311.
Foth, G. 190. 328. 329.
Fraenkel, A. 354. 376.
Fraenkel, B. 394.
Fraenkel, C. 111. 150. 151. 361. 371. 399. 434. 449. 499. 500. 502.
Fraenkel, E. 43. 320. 333. 347.
Frank, G. 343.
Frankland, P. 150.
Freymuth, W. 125.
Fried, E. 197.
Friedberger, E. 168. 261. 294. 453.
Friedländer, C. 378.
Friedrich, P. L. 356.
v. Frisch 367.
Fritsche, E. 164.
Frohmann 359.
Fromme 226.
Frosch, P. 68. 365.
Frost, W. D. 247.
Fuchs, E. 446.
Funck, E. 85.
Fürntratt, K. 415.
Futaki, K. 249.

G.

Gabbet 394.
Gabritschewsky, G. 25. 47. 196.
Gaethgens, W. 76.
Gaffky, G. 146. 169. 194. 245. 260. 322. 339. 347. 397. 406. 407. 426. 433.
Galewski 449.
Galli-Valerio, B. 328.
Gamaleia, N. 207. 232.
Gappisch 375.
Garré, C. 133. 343.
Gärtner, A. 79. 181. 187. 425.
Gärtner, G. 238.
Gasperini 361.
Gautié, A. 489.
Gay-Lussac 78.
Gehrke 371.
Gemelli, E. 201.
Gengou 258.
Gerber 366.
Germano, E. 333. 407.
Gessard, C. 220. 340.
van Geuns 37.
Ghon, A. 94. 146. 150. 164. 347. 351. 352. 356. 379. 381.
Giemsa, G. 42. 456. 465.
van Gieson 53.
Girard 455.
Globig 109.
Glücksmann, S. J. 371.
Golgi, C. 464.
Gordon, M. H. 332.
Gorini, K. 77. 231. 233.
Gorsline, C. B. 247.
Gosio, B. 223. 224. 225. 229. 263.
Gotschlich, E. 293. 379.
Gottheil, A. 188. 291. 499.
Gradenigo, G. 358.
Gradwohl, H. 319.
Gräf, H. 413. 460.
Gram, Chr. 49 u. ö.
Gramatschikoff, A. 167.
Gran, H. 76.
Graser, E. 233. 444.
Grassi, B. 462.
Graßberger, R. 154. 347. 382.
Grawitz, E. 351.
Griffon, V. 454.
Grimme, A. 185. 186. 383.
Grimmer 360.
Grotenfelt, G. 220.
Gruber, M. 147. 249. 253. 267.
Gruby 316.
Grünwald, L. 41.
Guarnieri, G. 334.
Günther, C. 52. 133. 195. 310. 394. 467.
Guttmann, P. 394.

H.

Haberda 453.
Haffkine, W. M. 259. 260.
Hahn, M. 224. 234. 239. 434.
Hala 331.
Halberstamm 280.
Halberstätter 458.

Digitized by Google

Hallé, J. 342.
Hamburger, F. 246.
Hammerl, H. 149.
Hansen, A. 325. 326.
Hansen, E. Chr. 313. 487.
Harmsen, E. 453.
Harris, Macleod 247.
Haßlauer, W. 358. 366. 367.
Hauser, A. 319.
Hauser, G. 99. 132. 133. 149. 151. 279. 308. 340. 341.
Hayaschikawa, J. 407.
Hebert, A. 375.
Hebewert, F. H. 218.
Heichelheim, S. 402.
van der Heide, C. 76.
Heinz, R. 238. 248.
Haller, J. 75.
Heller, O. 408.
Hempel, W. 228.
Henke, F. 60.
Herr, F. 389. 472.
Herrmann 305.
Herxheimer, K. 455. 457.
Herzfeld 305.
Hesse, A. 76.
Hesse, R. 146.
Hesse, W. 27. 36. 37. 78. 105. 146. 225. 399. 433. 481.
van Hest, J. J. 86.
Heß, O. 302.
Hetsch, H. 245. 260. 422.
Heubner, O. 167.
Heuß 167. 244. 385.
Hewelke 365.
Heydenreich, L. 87. 115.
Heymann, B. 368.
v. Hibler, E. 145. 226. 365.
Hilbert, P. 372.
Hiltner, L. 483. 500. 501.
Hinterberger, A. 198. 202.
Hirschbruch 432.
Hiß, Ph. H. 182.
Hodenpyl, E. 238.
Hoffa, A. 220.
Hoffmann, E. 311. 455. 456. 457. 458.
Hoffmann, W. 493.
Hofmann, F. 149. 230. 385. 398.
Holz, M. 109.
Horniker, E. 342.
Hueppe, F. 102. 103. 105. 150. 151. 187. 189. 220. 467.
Hürthle, K. 497.

I.

Ilkewitsch, K. 470.
Israel, J. 312. 357.
Issatschenko, M. B. 221.
Iwanoff, K. S. 207.

J.

Jacobi, E. 133.
Jacobsohn 213. 449.
Jacobsthal, E. 280.
Jacqué, L. 399.
Jaeger, H. 109. 337. 341. 351. 422. 446. 447.
Jaffé, J. 419.
Jagić, N. 461.
Jancsó, N. 461.
Jehle, L. 381.
Jenner, E. 245.
Jochmann, G. 352. 353. 384.
Jodlbauer, A. 293.
Johanissian, A. 433.
Johne, A. 344.
Joos, A. 103.
Joseph, M. 327.
Jürgens, G. 365. 408. 423.

K.

Kaatzer, P. 17.
Kabrhel, G. 145.
Kaiser, M. 470. 488.
Kalberlah, Fr. 352.
Kamen, L. 148. 347. 398.
Kämmerer, H. 277.
Kanthack, A. 104.
Karg 364.
Karlinski, J. 308. 366. 384. 431. 443. 459.
Kartulis, S. 357. 361. 422.
Kaufmann, R. 402.
Kayser, B. 363.
Kayser, H. 183. 409. 410. 411.
Kempner, W. 429. 471.
Kern, F. 100. 159. 187.
Kerner, J. 333.
van Ketel, B. A. 470.
Kiefer 451.
Kirchner, M. 13. 72. 379. 392.
Kirstein, F. 284.
Kißkalt, C. 52. 342. 490.
Kitasato, S. 145. 147. 160. 226. 231. 310. 342. 349. 400. 431. 491.
Kitt, Th. 307. 328.
Kladakis, Ph. 150.
Klebs, E. 159. 169. 370.
Klein, A. 189. 218.
Klein, E. 164. 246. 314.
Kleine, F. K. 329.
Klett, A. 223.
Klieneberger, C. 382. 453.
Klinger, P. 96. 415.
Knauß, K. 85.
Knorr, A. 348.
Kob 351.
Kober, M. 371.
Koch, R. 5. 7. 8. 13. 37. 41. 63. 65. 71. 108. 112. 116. 135. 146. 161. 169. 194. 197. 236. 238. 239. 243. 245. 282. 290. 303. 327. 334. 339. 347. 361. 367. 383. 384. 385. 388. 391. 400. 401. 402. 406. 411. 422. 431. 433. 435. 441. 458. 459. 461. 462. 479.

Digitized by Google

Kokubo, K. 283. 296.
Kolb, M. 171.
Kolessnikoff 105.
Kolkwitz, R. 474.
Kolle, W. 18. 114. 240. 242. 259. 260. 262. 265. 266. 271. 352. 382. 409. 466.
Konrádi, D. 471.
Körber, B. 122.
Koske, F. 337.
Kossel, H. 167. 195. 244. 262. 353. 359. 385.
Kowarsky, A. 462.
Krahnepuhl 411.
Král, F. 106. 107. 108. 110. 129. 132. 315. 316. 324. 325. 478.
Kranzfeld, D. 328.
Kraske, P. 356.
Kratter, J. 453.
Kraus, A. 323.
Kraus, R. 236. 250. 252. 254. 268. 278. 337. 434.
Krause, F. 337.
Krefting, R. 453.
Kresling, K. 383.
Kretz, R. 86.
Kriebel, M. 466. 468. 470.
Krogius, A. 445.
Krompecher, E. 355. 384.
Krönig, B. 71. 152. 179. 283. 296. 299. 308. 337.
Krönig, G. 114.
Kruse, W. 93. 240. 360. 421. 422. 426. 467.
Kubel 95.
Kübler 286. 287. 505.
Kudicke 459.
Kuhn, F. 76.
Kühne, H. 17. 61. 400.
Kuntze, W. 202.
Kuprianow, J. 86. 100.
Kurpjuweit 408.
Kurth, H. 307. 384. 411.
Küster, E. 25. 389.
Kutschbert 360.
Kutscher, F. 206. 310. 327. 491.
Kutscher, K. 260.

L.

Lafar, F. 472.
de Lagerheim, G. 110.
Landmann, G. 14. 429. 430.
Landsteiner, K. 256.
Lange, L. 148.
Latapie, A. 100.
Leber 238. 335.
Leclef, J. 248.
Le Dantec 331.
Lehmann, K. B. 79. 194. 196. 197. 206. 216. 222. 303. 402.
Leichmann, G. 466.
Leitz, E. 6.
Lenhartz, H. 352. 461.
Lentz, O. 96. 272. 410. 411. 417. 421. 422.
Lepeschkin, W. W. 206.
Lesage, A. 424.
Le Sourd 454.
v. Leszczynski, R. 450.
v. Leube, W. O. 233. 307. 332. 444.
Levaditi, C. 455. 456.
Levy, E. 76. 328. 348. 349. 350. 400. 427. 431. 488.
Lewkowicz, X. 373.
Lexer, E. 356.
Liborius, P. 146. 151.
Lichtwitz, L. 294.
Lickfett 125.
Lie, H. P. 326.
Liebermeister, G. 185. 186.
Lignières 488.
Lindner, G. 39. 133.
v. Lingelsheim, W. 264. 283. 337. 352.
Lingner 302.
Lipez, F. 133.
Lipskerow, M. 369.
Lipstein, A. 372.
Litten, M. 31.
Ljubinsky 369.
Lode, A. 86. 221. 339.
van der Loeff, A. 334.
Loeffler, F. 41. 79. 89. 97. 102. 164. 169. 194. 197. 200. 201. 240. 245. 300. 310. 322. 328. 329. 365. 370. 371. 407. 414. 415. 420. 426. 442. 491.
Loewenberg, B. 367.
Longard, K. 217.
Lorenz 262.
Lösch 422.
Lösener, W. 231.
Löser 457.
Löw, O. 235.
Lübbert, A. 106. 428.
Lubenau, C. 372. 427.
Lubinski, R. 442.
Lubinski, Ws. 384.
Lubowski 277.
Ludwig, F. 221. 226.
Ludwig Ferdinand, Prinz von Bayern 354.
Luer 163.
Luerssen, A. 361. 382.
Lunkewicz, M. 114.
Lustgarten, S. 388.
Lyons, R. E. 207.

M.

Maaßen, A. 81. 88. 89. 151. 154. 207. 224. 225. 226. 231. 234. 398.
Mac Crae 247.
Macfadyen, A. 233. 239.
Macleod 383.
Madsen, Th. 348. 371.
Maffucci, A. 387.
Maggiora, A. 358.

Digitized by Google

Majocchi, D. 360.
Malassez 160.
Manfredi, L. 166.
Mankowski, A. 222.
Mann 61.
Manson, P. 465.
Marchand, F. 375.
Marmorek, A. 293.
Marpmann, G. 415.
Marschall, F. 418.
Martini, E. 167. 246. 352. 421.
Marx, E. 44. 177. 245. 264. 266.
Marx, H. 110. 328.
Marxer 347.
Matterstock 388.
Matzenauer 316.
Maurea, G. 407.
Maurer, G. 465.
Mavrojannis, A. 132.
May, R. 41. 42. 401.
Mayer, G. 73. 328. 426.
Mayer, H. 261.
Mayer, M. 240. 373.
Mayer, P. 48. 58.
Mehler, H. 219. 480.
Meinicke 236. 237. 434.
Mendoza, A. 307.
Menge, K. 73. 152. 451.
Menzer, A. 356.
Menzi, H. 31.
Merke, H. 289.
Messea, A. 196.
Metschnikoff, E. 246. 247. 248. 256. 345. 383. 434. 458.
Meyer, A. 184. 186. 188. 192. 193. 291. 292.
Meyer, E. 476.
Meyer, G. 163.
Meyerhof, M. 371.
Mez, C. 474.
Mezinescu, D. 341.
Michaelis, G. 337.
Michaelis, L. 42. 55. 186.
Migula, W. 193.
Miller, W. D. 300. 363. 364.
Miquel 233.
Mironesco, Th. G. 195.
Moeller, A. 389. 390.
Moeller, H. 190.
Molisch, H. 221.
Montesane, G. 233.
Morax 362.
Moreschi, C. 258.
Morgenroth, J. 254.
Moro, E. 403. 404.
Morris, M. 226.
Much, H. 345.
Mucha, V. 356.
Mühlens, P. 311. 373.
Mühlhäuser, H. 398.
Mühlschlegel, A. 188. 190.
Mühsam, R. 170.
Muir 201.
Müller, A. 189.
Müller, L. 361.
Müller, O. 495.
Müller, P. Th. 333. 470.
Müller, R. 359. 413. 460.
Mulzer, P. 457.
Murata, N. 260.
Musehold 383.
Muskulus 233.

N.

Nagel, H. 500.
Nägeli, K. W. 303.
Nakanishi, K. 185.
Nastiukoff, N. M. 474.
Nebel, A. 31. 398.
zur Nedden 361. 362.
Neelsen 44. 220.
Negri, A. 61. 353.
Neide, E. 50. 191.
Neißer, A. 45. 189. 213. 316. 326. 448. 449. 451. 452. 458.
Neißer, E. 360.
Neißer, M. 103. 184. 236. 240. 256. 258. 274. 337. 338. 360. 368. 369. 370. 379. 382. 453. 475. 485.
Nencki, M. 226. 229. 237. 238.
Netter 354.
Neufeld, F. 248. 359. 414.
Neumann, R. O. 196. 219. 222. 303. 343. 359. 366. 402. 476.
Neumayer, J. 314.
Nicolau, S. 294.
Nicolle, Ch. 50. 51. 52. 54. 268. 328. 375. 454.
Niebel 73.
Niederkorn 219.
Niedner 78. 481.
v. Nießen 395.
Nikiforoff, M. 147.
de Nobele 425. 426.
Nocard, E. 384. 387. 426.
Nocht, B. 41.
Noeggerath, C. T. 455.
Noeggerath, E. 223.
Nordtmeyer, H. 34.
Novy, F. G. 149. 246.
Nowak, J. 210.
Nutall, G. H. F. 279. 397.

O.

Obermeier, O. 458.
Obermüller, K. 471. 472.
Oeller, J. N. 363.
Oertel, M. J. 370.
Ogston, A. 336.
Ohlmüller 192.
Oldekop, A. 408.
Olt 346.
Omeltschenko, Th. 301.
Opificius, M. 455.

Digitized by Google

Oppel, A. 48.
Oshida, T. 178.
Ostermann, A. 374. 375.
Ostertag, R. 426. 473.
Ostwald, W. 297.
Otten, M. 319. 353.
Otto 237.
Otto, M. 476.
Otto, R. 337.
Overbeck 195.

P.

Paffenholz 125.
Paltauf, A. 356.
Paltauf, R. 268.
Panea, J. 457.
Panum 237.
Pappenheim, A. 41. 54. 449. 450.
Partsch, K. 364.
Pasternacki, Th. 459.
Pasteur, L. 34. 194. 228. 244. 245. 347. 442.
Paul, Th. 71. 85. 88. 283. 284. 296. 299. 300. 337.
Pawlowski, A. D. 384.
Peppler, A. 75. 198. 200. 202. 205. 405. 406. 407. 442. 444. 473. 494.
Péré 489.
Peters, A. 360.
Petri, R. J. 81. 88. 89. 114. 151. 226. 231. 389.
Petruschky, J. 114. 229. 247. 311. 334. 337. 402. 407. 466. 468. 470. 488.
Peuchu, M. F. 328.
Pfaundler, M. 268.
Pfeffer, W. 233. 238. 335.
Pfeiffer, A. 115.
Pfeiffer, H. 379.
Pfeiffer, L. 334.
Pfeiffer, R. 3. 45. 94. 168. 238. 244. 256. 261. 264. 265. 266. 294. 359. 379. 380. 382. 409.
Pfuhl, A. 381.
Pfuhl, E. 120. 422. 424.
Phisalix, C. 194.
Piatkowski, S. 390.
Pick, L. 213. 449.
Piorkowski, M. 75. 407.
Plato, J. 316. 448.
Plaut, H. C. 133. 315. 316. 323. 324. 373.
Poda, J. 305. 331.
Poehl 231.
Polloson 326.
Pospisil, J. 21.
Prantner, V. 54. 55.
Prantschoff, A. 434.
Prausnitz, W. 126. 133.
Prettner, M. 328.
Preyß, A. 397.
v. Preyß, W. 94. 381.
Preysing, H. 358.
Pribram, E. 434.
Prior, J. 310. 363.
Prösscher, F. 274. 338.
Proskauer, B. 77. 231. 242. 281. 287. 290. 301. 302. 333. 490. 500. 505.
Prudden, M. 238.
Pukall, W. 35.
Pusch, H. 488.

Q.

Quincke, H. 350. 353. 409.

R.

Rabinowitsch, L. 314. 387. 389. 472.
Racine, H. 349.
Raebiger, W. 43. 44.
Rahn, O. 233.
Rahner, R. 383.
Ransom 261.
Rapp, R. 234.
Reichel, P. 35. 337.
Reichenbach, H. 206. 311. 366.
Reichert 138.
Reinsch, A. 72.
Reiter, H. 242.
Reitmann, K. 456.
Reitz, A. 473.
Rembold, R. 473.
Rieder, H. 294.
Riedlin, G. 217.
Rieke, H. 333.
Rimpau, W. 248.
v. Rindfleisch, G. E. 393.
Ringeling, H. G. 488.
Ris, F. 356.
Rist, E. 146. 310. 341. 342. 359.
Ritter 397.
Rivière 360.
Rivolta, S. 387.
Rodella, A. 364. 490.
Rodenbach, F. J. 317. 332.
Roemer, F. 238.
Roese, C. 363.
Roger, M. 110.
Rohde 352.
Rolly 460.
Roloff, F. 400.
Romanowsky, D. L. 42.
Römer, P. 378.
Römer, P. H. 244. 385.
Rosa, Patellani, S. 451.
Rosenbach, F. J. 317. 332.
Rosenberger, M. 461.
Rosenblatt, St. 398.
Rosenthal, J. 105.
Rosenthal, W. 407.
Ross, R. 462. 465.
de Rossi, G. 201.
Rothberger, C. J. 228. 408.
Roux, E. 139. 151. 194. 247. 371. 384. 387. 458.

Digitized by Google

Roux, G. 490.
Roux, J. 109.
Rowland, S. 239.
Rubner, M. 172. 208. 218. 219. 226. 287. 288. 296.
Rüdorff 293.
Ruge, R. 462. 465.
Ruzicka, V. 184.

S.

Saathoff 53.
Sabolotny, D. 434.
Sabouraud, R. 316. 325.
Sachs, H. 255. 258.
Sachs, M. 146. 150. 347. 356.
Sadler, K. 276.
Sahli 402.
Sakharoff, N. 105.
Salkowski, E. 231. 232.
Salomon 426.
Sames, Th. 216.
Sanarelli, J. 246.
Sandberg, G. 402.
Sander 384.
Sanfelice, F. 349. 350.
Saul, E. 213.
Schaeffer, J. 452.
Schattenfroh, A. 154. 347.
Schaudinn, F. 187. 311. 454. 455. 456. 457. 463.
Scheffler, W. 408.
Scheib, A. 353.
Scheibe 360.
Scheller, R. 270. 369.
Schepilewski, E. 494.
Scheurlen 220. 223.
Schjerning, O. 348.
Schill, E. 110.
Schillinger, A. 216.
Schimmelbusch, C. 170.
Schlegel, M. 308. 357.
Schlesinger, W. 402.
Schmidt 44.
Schmidt, F. S. 16.
Schmiegelow 365.
Schmorl, G. 364.
Schnitzler, J. 337.
Schnürer, J. 330.
Schoebel 21.
Scholl, H. 220.
Scholz, W. 144. 451. 452.
Schottelius, E. 361. 460.
Schottelius, M. 371. 379. 433.
Schottmüller, H. 99. 333. 352. 356. 359. 375. 376. 378. 379. 407. 410. 413. 425. 442. 460.
Schreiber, K. 233.
Schreyer, O. 373.
Schröter 63.
v. Schrötter, H. 220. 336.
Schubert, P. 367.
Schüder 495.
Schüffner, W. 463.
Schuhmacher 476.
Schüller 163.
Schultz, O. 105.
Schultze, E. 337.
Schultze, F. E. 148.
Schumburg 477.
Schur, H. 280.
Schürhoff 318.
Schütz, G. 479. 480. 484.
Schütz, W. 385. 442.
Schütze, A. 279.
Schwenzer, P. 36. 476.
Schwer 432.
Schwoner, J. 372.
Sclavo, A. 476.
Sederl, H. 379.
v. Sehlen 19. 120. 448.
Seifert, O. 379.
Seitz, J. 331. 341.
Seitz, O. 179.
Selmi 237.
Sendziak, J. 365.
Serafini, A. 344.
Shattock, G. S. 328.
Shaw 246.
Shiga, K. 240. 421.
Sieberth, O. 363. 364.
Siedamgrotzky 308.
Siegel 365.
Silberschmidt, W. 341.
Simmonds, M. 171.
Simon 337.
Simon, J. 465.
de Simoni 367.
Sittler, P. 445.
Sittmann, G. 460.
Slawyk 381.
Slupski, R. 148.
Smidt, H. 426.
Smith, E. F. 292.
Smith, Th. 227. 229. 426.
Smith, Wood 310.
Sobernheim, G. 162. 168. 245. 262.
Söllner, J. 323.
v. Sommaruga, E. 228.
Soyka, J. 107. 132.
Spengler, C. 387. 395. 399. 401.
Spiegel, O. 41.
Spietschka 316.
Spina, A. 223.
Spuler, A. 58.
Staehelin, R. 455.
Stagnitta-Balistreri 226.
Stas 237.
Stäubli, C. 274.
Stefansky, W. K. 341.
Steinberg 277.
Steinschneider 105. 449. 451.
Stenbeck, Th. 31.
Stephens, J. W. 104. 310.
Stephenson 5.
Stern, R. 460.
Stevenson, W. F. 168.

Digitized by Google

Stewart, B. C. 292.
Sticher 289.
Sticker, G. 367.
de Stoecklin, H. 375.
Stolz, A. 206.
Störmer, K. 483. 500. 501.
Strasburger, J. 351. 398. 403. 443.
Straus, J. 327. 328. 366.
Stregulina, A. 499.
Strong 260.
Stroschein, E. 161.
Stroß, O. 451.
Swingle, D. 292.
Symmers, W. 246.

T.

Taenzer 54.
Tappeiner, H. 293.
Tarchanoff, J. 105. 221.
Tarozzi, G. 144.
Taute, M. 389. 390. 399.
Tavel, E. 388.
Tchistowitch, V. 279.
Teich, M. 309.
Teichert, K. 472.
Tertsch 360.
Thalmann, A. 451.
Thesing, E. 189. 190.
Thévenot 360.
Thiele, H. 293.
Thierfelder, H. 467.
Thiry, G. 487.
Thomann, J. 74. 219. 480.
Thörner, W. 470.
Thumm, K. 220.
Tictin, J. 459.
Tiemann 79. 95.
Tietz, J. 96. 417.
Tilanus, C. B. 221.
Timpe, H. 81.
Tissier, H. 403.
Tochtermann, A. 103.
Todd 459.
Tomasczewski, E. 454.
Törne, F. 367.
Touton, K. 449.
Treadwell, F. P. 78.
Trenel, M. 268.
Treskow 86.
Trombetta, S. 171.
Trommsdorff, R. 426.
Tsiklinsky 404.
Tuillier 442.
Turner, G. 262.
Tyndall 70.

U.

Ucke, A. 145. 149.
Uffenheimer, A. 359.
Uhlenhuth, P. 279. 365.
Uhma 448.
Uhthoff, W. 360. 361.
Unna, P. G. 54. 85. 126. 315. 317. 318. 323. 325. 329. 453.
Uschinsky, N. 111. 372.

V.

Vagedes, K. 384. 385.
Vahle 337.
Vallet 494.
Vannod, Th. 451.
Vanselow 334.
Veiel, F. 323.
Veillon 146. 341. 455.
van de Velde, H. 337.
Venema, T. A. 488.
Veszpremi, D. 341.
Vincent, H. 247. 331. 341. 358. 373. 488. 489.
Viola, P. 166.
Voges, O. 77. 79. 160. 230. 433.
Vogt, H. 233. 447.
Voigt, L. 175. 334.
Voigtländer 73. 104.
Volpino, G. 456. 459.
Voß, O. 358.

W.

Waelsch, L. 324.
Walbaum, H. 78.
Walker, A. 246.
v. Wasielewski 334.
Wassermann, A. 104. 240. 241. 255. 262. 269. 279. 340. 352. 372. 382. 426. 429. 451. 452.
Wasserzug, E. 246.
Weber, A. 167. 244. 385. 387. 389. 390. 399.
Weber, R. 16.
Wechsberg, F. 236. 246. 255. 256. 337. 338.
Weeks, J. E. 361.
Weibel, E. 309. 310.
Weichardt, W. 100. 242. 249. 253. 254. 257. 279. 409.
Weichselbaum, A. 164. 351. 352. 354. 375. 376. 377.
Weidenreich, F. 183.
Weigert, C. 49. 51. 53. 213. 238. 252.
Weil, E. 241.
Weil, R. 193. 194. 290.
Weinrich, M. 50. 51. 449.
Weißenfeld, J. 488.
Welcke, E. 354.
Werner, G. 347. 399.
Werner, R. 294.
Wertheim, E. 450. 452.
Wesener, F. 105.
Weyl, Th. 145.
Widal, F. 246. 267. 354.

Digitized by Google

Wilhelmy 75.
Windelbandt, A. W. 494.
Winkler, C. 228.
Winkler, F. 213.
Winogradsky 312.
Winterberg, H. 218.
Witte, J. 401.
Wladimiroff, A. 459.
Wolf, K. 293.
Wolf, S. 247.
Wolff, A. 144. 223. 354.
Wolff, M. 357.
Wolffhügel, G. 484.
Wollny, R. 72.
Wright, A. E. 248.
Wurtz, R. 414.

Y.

Yersin, A. 342. 371. 387.

Z.

Zaufal, E. 360.
v. Zebrowski, E. 355.
Zeiß, C. 1.
v. Zeißl, M. 454.
Zeller, E. 60.
Zettnow, E. 41. 48. 80. 83. 180. 181. 182. 183. 184. 196. 198. 199. 200. 202. 203. 206. 310. 311. 459. 529. 530.
Ziehl, F. 44.
Zieler, C. 54. 406.
Zimmermann, K. 355. 384.

Sachregister.

A.

A. = Aerobier 305.
AA. = Anaerobier 305.
Abbescher Beleuchtungsapparat 6. 7.
Abdampfschalen 24.
Abfallstoffe des Lab. 20. 514.
Abfüllvorrichtungen 86.
Abimpfung 125.
Abortgruben, Desinfektion 280.
Absättigung im Serum 269. 279.
Abschmelzung von Gläsern 132.
Abschwächung der Virulenz 244.
Abspülung der Präparate 19. 47. 512.
Abstiftung von Kolonien 483. 501.
Abszesse, kalte 336.
Aceton 58. 60.
Acetonalkohol 54.
Achatmörser 24.
Achorion 315.
Agar-Agar 76, s. auch Nähragar.
Agarkulturen 123; Schnitte 213.
Agglutinierende Sera 267—278.
Agglutinine 252. 269.
Agglutinoide 254.
Aggressine 240.
Aktinomykose 357. 360. 364. 375.
Alaun-Cochenille 48.
Albumosen zu Nährböden 78.
Aleuronatbrei 238.
Alexine 255.
Alkalialbuminatnährböden 103.
Alkalibildung 228. 230.
Alkaleszenz, geeignete 209. 440.
Alkalibildung der Bakterien 228. 230.
Alkalisierung der Nährb. 79. 81—83.
Alkaloide und ähnliches 237.
Alkohol, absol. 47; verd. 52.
Alkohole, versch. zur Entfärbung 52.
Ambozeptoren 254.
Ammenimmunität 259.
Amöben im Darm 402.
Amöbenenteritis 422.
Amylobakterienarten 186.
Anaerobier 144—154; Verhalten zu Sauerstoff 225; riechende Stoffe 226; im Eiter 335; im Wasser 490.
Anethol zu Schnitten 61.
Angina 373—375.
Anilinfarben 39.
Anilinölgentianaviolett 43.
Anreicherungsverfahren für Choleravibr. 433. 491; für Tb. 399; für Kolibakt. 487; für Tyb. 493; für Sporen im Kot 428.
Antiagglutinine 254.
Antigene 251.
Antiimmunkörper 254.
Antikomplemente 255.
Antistoffe, Ausscheidung 258.
Antitoxine 252.
Antitoxische Sera 262—264.
Antitrypsin 338.
Antrocknung an Seidenfäden 285. 321.
Apochromaten 5.
Arbeitstische, bakt., Einrichtg. 506—514.
Arsennachweis, biologischer 224.
Arthrosporen 187.
Asbestfilter 35. 474. 495.
Asbestpappe 29.
Asche der Bakterien 208.
Aspergillus 318.

Digitized by Google

Asporogene Bazillen 194.
Aether zur Sterilisierung 72.
Aetherische Oele zur Desinfektion 301.
Aufbewahrung von Organen 321.
— von Nährmitteln 87.
— von Reinkulturen 131.
Aufgüsse von Vegetabilien 111.
Auflösungsvermögen der Systeme 4. 6.
Aufschriftzettel 28.
Aufschwemmung von Bakterien 282.
Auge 360—363; Impfung ins Auge 165.
Auskeimung der Sporen 188.
Ausstriche auf Platten 124.
— zur Färbung 45—48; nach Gram 49; für Geißelfärbung 199.
Austrocknungsversuche 284.
Auswurf, Unters. auf Tb. 391—402; Färbung 392; Zweifel danach 396; Mengenbest. d. Tb. 396; Desinfektion 392; Homogenisierung u. Sediment. 398; Klümpchen, Körner darin 375. 389. 391.
Autoklaven 68.
Autolyse 240.
Azur 42.

B.

Babes-Ernstsche Körperchen 184.
Bacillus acidophilus 403.
— aerogenes caps. 310. **347.**
— Aerthryck 426.
— alvei 191.
— anthracis 188. 309. **343.** 353; Rosafärbung 182; in Fäces, Milch 443; an Haaren u. Borsten 502; Abschwächung 244.
— asterosporus 188.
— avicida (Hühnercholera) 175. 231. 342.
— Berestnewi 206.
— bifidus 403.
— botulinus 216. 246. 285. 310. **428.**
— Bütschlii 187.
— butyricus 310. 469.
— carotarum 291.
— cohaerens 185. 291.
— coli communis 228. 229. 403. **405.**
— cyanogenes 181. 216. 219. 220. 468.
— diphtheriae 340. 360. **370.**
— dysenteriae 421.
— ellenbachensis 291.
— enteritidis 181. **425.**
— — mucosus 426.
— erysipel. suum 44. 209. 226. 309. **442.** 473.
— erythrosporus 186. 220. 309.
— esterificans 226.
— faecalis alcaligenes 416.
— fluorescens 219. 220; liqu. 480.
— Friedländeri 207. 339. 353. 375. **378.**
— funduliformis 342.
— fusiformis (aerob) 291.
— — (anaerob) 331. **341.** 363.
— graveolens 291.
Bacillus hastilis 341.
— influenzae 361. 374. **380.**
— Koch-Weeks 361.
— lactis aerogenes 207. 311. 353. **403.**
— — erythrogenes 220.
— leprae 325.
— mallei 309. **327.**
— maximus buccalis 363.
— megatherium 247. 309.
— mesentericus ruber 290.
— — vulgatus 309.
— misothermus caps. 305. 309.
— morbificans bovis 426.
— mycoides 291. 309. 499.
— oedematis maligni 310. **347.** 498.
— ozaenae 367.
— paratyphosus alcalifaciens 410. 426.
— peptonificans 427. 469.
— pestis 308. **342.** 379.
— phlegmones emphysematosae 347.
— phosphorescens 221.
— prodigiosus 187. 216. 220. 233. 309.
— proteus fluorescens 233. **446.**
— psittacosis 426.
— pumilus 291.
— purpurae 308.
— pyogenes ramosus 309. 341.
— pyocyaneus 220. 225. 235. 239. **340.** 353.
— rhinoscleromatos 367.
— ruminatus 291.
— salmonicida 309.
— sarcophysematos 310.
— simplex 291.
— smegmae 359.
— stomatofoetidus 375.
— subtilis 291.
— suipestifer 229. **426.**
— tetani 310. **348.** 498.
— tuberculosis 383—388 (s. Tub.-Baz.).
— tumescens 291.
— typhi 52. 228. **406** (s. Typh.-Baz.).
— typhi murium 426.
— ulceris mollis 453.
— ureae 444.
— violaceus 487.
— xerosis 308. **360**; anaerob 309. 331.
— Zopfii 309.
Bacteriaceae 302.
Bacterium 304.
Bakterienleib, Bau 183; Stoffe 237.
Bakteriolysine 256.
Bakteriolytische Enzyme 235.
— und bakterizide Sera 264—267.
Bakteriotropine 248.
Bakteriurie 445. 446.
Bänkchen für Platten 113.
Basidien 319.
Basisch Blau 41.
Bauchhöhle 355; Einspritzung 168.
Bazillen, lange im Magen 402.
— sporen- und nichtsporenbildende 308. 309.
Beggiatoa 312. 474.

Digitized by Google

Beizen und Beizung 200; zur Sporenfärbung 190; für Ektoplasma 182.
Beleuchtung beim Mikroskopieren 8.
Beschreibung der Kulturen 209—212.
Besteck, aseptisches 177. 321.
— zum Mikroskopieren 13.
Bewegung der Bakterien 180. 195.
Bierwürze als Nährboden 110.
Bismarckbraun 51.
Blasen auf der Haut 334.
Blastomyzeten 313.
Blenden 7.
Blockschälchen 23.
Blut 458—465; Einspritzung 168; Entnahme 170. 460; bei Typhus 412; aus der Leiche 99; zu Nährmitteln 83. 102. 451; forens. Nachweis 258. 279.
Blutkuchenwasser 94. 433.
Blutparasiten 462.
Blutserum als Nährmittel 98—103. 451; bei Desinf.-Vers. mit Chemikalien 295; zur Immunisierung s. das.
Boden 498—502.
Bogenlicht 294.
Boraxmethylenblaulösung 465.
Borsten 502—505.
Botulismus 428.
Bouillon s. Nährbouillon; als Mittel bei Desinf.-Vers. 292.
Bouillonkulturen, Merkmale 213; Verarb. zur Geißelfärbung 199.
Brom 301.
Bronchitiden 375.
Brotbrei 110.
Brusthöhle 353—355; Einspritzung 167.
Brütschränke 134—144. 508; kalte 140.
Brützimmer 143.
Bubonenpest 342.
Bunsenbrenner 14.
Büretten 26.
Butter 471—473.

C.

Chemikalien 525; zur Sterilisierung 71; Desinfekt.-Vers. 294—302.
Chemotaxis 238.
Chlor 301.
Chloroform zur Sterilisierung 72. 101.
Cholera asiatica 431—442; bakt. Diagnose 435—442; Schutzimpfung 259.
Choleraähnliche Vibrionen 434.
Cholerablau 232.
Cholera nostras 442.
Cholerarot 232.
Choleraserum, bakteriolyt. 264—266.
— agglutinierendes 270—272.
Choleravibrionen 187. 310. **431**; Wasser- u. Aschegehalt 208; Indolrektion 231; Vermehrungsgeschwindigkeit 217; Hämolysinbildung 236. 237; Austrocknung 246. 285; Nachweis im Wasser 491; Vorschriften für Arbeiten mit Ch. 129.
Chromatin 42. 183.
Chromatium Okenii 183. 186.
Cladothrix 313. 474.
Coccaceae 303.
Coccobacillus haemophilus 381.
Cofferdam zu Verschlüssen 27.
Columella 318.
Crenothrix 313. 474.
Cysticercus fasciolaris 174.
Cystitis 445.
Cytoryctes vaccinae; variolae 334.

D.

Dahlia 456.
Dampf 287.
Dampfapparate 68. 288.
Dampfförmige Mittel 300.
Dampftopf 65; mit Ueberdruck 67.
Dampftrichter 85.
Darminhalt 402—443.
Darminjektionen 169.
Deckgläser 16. 45; Reinigung 198.
Degenerationsformen 207.
Desinfektion 280—302; Apparat zur Prüfung 191; Prüfung der Apparate 289; Theorie der Dampfdesinf. 288; Desinf. der Hände 179; von Haaren u. Borsten 504; mit Chemikalien 294—302.
Desodorisation 280.
Deyckes Nährboden 104.
Dialysatoren 241.
Diastase 233.
Diphtherie 367—372; Hautgeschwür 330. 340; Nährboden f. Diphth.-Diagn. 102.
Diplobacillus Morax-Axenfeld 362.
Diplococcus lanceolatus 285. 307. 339. 361. **376.**
Diskontinuierliche Sterilisation 70.
Dispora caucasica 187.
Dissoziationsfähigkeit 296.
Doppelschalen und -schälchen 113. 114.
Dosenlibelle 115.
Dosierung der Infektionsstoffe 243.
Drahtdreiecke, Drahtnetze 29.
Dreifüße 29.
Dunkelfeldbeleuchtung 6.
Dysenterie 420—424.

E.

Eau de Javelle 186.
Eichung der Platinösen 18.
Eier als Nährmittel 103. 105.
Eigelb zur Züchtung 451.
Eigenbewegung 180. **195**; zweifelhafte Fälle 196; Schnelligkeit 197.
Einbettung in Balsam 48; in Glyzerin oder Natriumsilikat 318.
Einrichtung von bakt. Labor. 506—527.
Einteilung der Bakterien 303.
Eis 475.
Eischimmel 314.
Eisenlicht 294.

Digitized by Google

Eisschrank 74. 508.
Eiter 335.
Eiweiß zur Klärung 83.
— biologischer Nachweis 258. 279.
Eiweißfreie Nährböden 111.
Eiweißglyzerin 58. 60.
Eiweißspaltende Enzyme 232.
Ektoplasma 18. 183.
Elastische Fasern 401.
Endotoxine 238. 239. 250.
Entblutung von Tieren 170.
Enterophilie 425.
Entfärbung mit Aceton 51; mit Alkohol 50; bei der Tb.-Färbung 393; nach Weigert 49.
Entkalkungsflüssigkeit 400.
Entoplasma 183.
Entwicklungshemmung 280.
Enzyme 232—235.
Eosinlösung, alkohol. 54.
Eosinmethylenblau 41.
Erstarrenlassen gelatinier. Nährböden 87.
— von Blutserum 101.
Erysipel 331.
Etiketten 28.
Exsikkatoren 28; Füllung 284.

F.

Fadenpilze s. Hyphomyzeten.
Fadenreaktion bei Agglut. 268.
Farbenbild 8.
Farbstoffe und -lösungen 39—45.
Farbstoffaufnahme 181.
Farbstoffbildung von Bakterien 219.
Farbstoffe in Bakterien 186.
Farbstoffflecken, Beseitigung 40.
Farbstoffgemische 223.
Farbstoffzusätze zu Nährmitteln 94. 223.
Färbung v. Ausstrichpräp. 45; v. Schnitten 48; v. Geißeln 197; v. Sporen 189; v. Tb. 392; nach Giemsa 42, Gram 49, May-Grünwald 41, Romanowsky 42.
Fäulniseintritt in Leichen 171.
Favus 315. 325.
Feldmäuse 156.
Fermente s. Enzyme.
Fett in Bakterien 186.
Fettspaltende Enzyme 233.
Fibrinfärbung nach Weigert 51.
Fickersches Diagnostikum für Typhus 276; f. andere Krankht. 277; f. Rotz 330.
Filterschutz 84.
Filtrierung bakt.haltiger Flüssigkeit 84.
— von Nährmitteln 83—86.
— von Luft z. Keimbest. 497.
Fischen von Kolonien 125.
Fistelgänge 357.
Fixierung v. Ausstrichen 46; v. Blut 461.
Fixierungsreaktion Bordets 257.
Flaschen 21; für Nährmittel 87; f. Kulturen 114; f. Wasserproben 477.
Fleisch 73; Reaktion 81.
Fleischextrakt 74.
Fleischhackmaschine und -presse 73.
Fleischsaft und -scheiben 106.
Fleischvergiftungen 424—431.
Fleischwasser 88.
Fleischzucker, Beseitigung 89. 229.
Fluoreszierende Bakterien 219. 220.
— Stoffe 293.
Flußverunreinigungsskala 489.
Flußwasseruntersuchung 474. 476.
Fokalabstand 4.
Formalin 58; z. Konservierg. v. Kulturen 132; bei der Geißelfärbung 199; für Desinfektion 301.
Formalingentianaviolettlösung 43.
Fuchsin 44.
Fuchsinlaktoseagar 95. 415. 416.
Fucus crispus 77.
Furunkel 343.

G.

Gärungskolben 228; -röhrchen 227.
Gasbazillen 319. 347.
Gasbestimmungsapparate 228.
Gasbildung durch Bakterien 225—228.
Gasbrenner 13.
Gasentwicklungsapparate 150.
Gasförmige Mittel zur Desinfektion 300.
Gasleitung, Einrichtung 509.
Gasolin 510.
Gasphlegmone und -gangrän 347.
Gebläse und -lampen 15.
Geflügelpest s. Bac. avicida.
Geflügeltuberkelbazillen 387.
Gefrierverfahren für Schnitte 61.
Gehirn 350—353.
Geißeln 182.
Geißelfärbung 197. 201—206. 460.
Gelatine zum Nachweis v. Enzymen 232.
Gelatineplatten 115—123.
Gelatinescheiben 122.
Gelatinetafeln 76.
Gelenkentzündungen 356.
Gelenkrheumatismus 356.
Gelase 76.
Gelose 76.
Generationsdauer in Kulturen 217.
Gentianaviolett 43. 49.
Gerinnung, Verhinderung 355. 460.
Geschlechtskrankheiten 448—458.
Geschwür, venerisches 453.
Gesichtsfeld, Ausmessung 486.
Gestell für Objektträger 18; für Farbfläschchen 22; zur Färbung 18. 50; für Pipetten u. Reagenzgläser 20. 25; zu Demonstrationen 133.
Giemsalösung 42.
Gifte der Bakterien 241.
Giftpipetten 25.
Gipsstäbchen 346.
Glasarbeiten 22.
Glasätz- und Schreibtinte 21.
Glasglocken 11. 16.
Glasspatel 19. 125. 417.

Digitized by Google

Glaswaren und Zubehör 20. 113.
Glutenkaseinbrei 238.
Glyzerin zu Farbflüssigkeiten 44; zu Nährböden 93.
Glyzeringelatine zur Einbettung 318.
Glyzerinkartoffeln 109. 355. 384.
Gonorrhöe 448—453.
Gramsches Verfahren 49—55; Ersatz 52.
Granaten zu Desinf.-Vers. 283.
Granulose in Bakterien 186.
Gummikappen 27; -schläuche 27. 509; -stopfen 26.
Gyrometer 33.

H.

Haare 323; von Tieren 502.
Halter für Tiere 160.
Hämalaun 48.
Hämatinagar 94.
Hämoglobin zu Nährböden 94.
Hämolysine 235—237. 256; d. Staphyl. 337; d. Choleravibr. u. ähnl. 434.
Hämophile Bazillen 308.
Hämorrhagische Infektion 308.
Hamburger Desinfektionsapparat zur Prüfung 191.
Händereinigung und -desinfektion 179.
Hängender Tropfen 37; f. Anaerobier 147.
Haptine 251.
Harn als Nährmittel für Bakterien 75. 222. 445.
Harn- und Geschlechtsorgane 443—448.
Harnblase, Einspritzung 169.
Harnröhrenentzündung 453.
Harnstoffzersetzung 233.
Harpune zur Abimpfung 126.
Hartfilter 34.
Haut 322—334; Impfung in die H. 164.
Hautpilze 324; Nährboden 106.
Hefepilze 313—315; bei Angina 375; Sporen 313; pathogene 314. 356.
Hefepreßsaft 234.
Hefewasserglukosegelatine 230.
Heißwassertrichter 84.
Heizbares Mikroskop 3.
Heizquellen im Laboratorium 507. 509.
Heubazillen 309. 499; s. Bac. subtilis.
Hirn 350—353; Herausnahme 179.
Hirnbreinährböden 106; für Anaerobier 145. 226.
Hirnhautimpfung 166.
Hitze, Desinfektionsvers. 285—292.
Höfe um Bakterien 181.
Hohe Schicht für Anaerobier 146.
Homogene Immersion 5.
— Kultur 246.
Homogenisierung von Auswurf 398.
Hospitalbrand 331.
Hühnercholera s. Bac. avicida.
Hühnertuberkulose 387.
Hüllen um Bakterien s. Ektoplasma.
Hunde 161.
Hundefavus 316.
Hyphen 318.
Hyphomyzeten 315—319.

I.

i. = immobilis 306.
Ikterus, fieberhafter 446.
Immersionsöl zur Einbettung 48.
Immersionssysteme 5; Einstellung 10.
Immunisierung, aktive 259; passive 261; gemischte 262.
Immunität 249—280.
Immunkörper 254.
Impfpusteln 334.
Impfung von Nährmitteln 117. 127.
Impfung von Tieren 159—169.
Indikatoren 78.
Indolbildung und -reaktionen 230.
Influenza 380.
Influenzabazillenähnliche Stäbchen 453.
Inhalationsversuche 167.
Inhalt des Bakterienleibes 181.
Invertierende Fermente 233.
Involutionsformen 207.
Iogen 186.
Isolierung von Keimen 111; mit flüssigen Nährmitteln 466.

J.

JG. 49. 306.
Jodjodkaliumlösung 50.
Jodococcus vaginatus 363.

K.

Käfige für Tiere 156.
Kahmhaut 314.
Kaliblau 41.
Kaltblüter-Tb. 389.
Kälte und Kältemischungen 292.
Kammer, feuchte 113.
Kanadabalsam 48.
Kaninchen 156. 157. 158; -halter 160.
Kanülen 162. 166. 171.
Kapillarpipetten 75.
Kapselbazillen 308. 309.
Kapseln der Bakterien 182. 344.
Karbolfuchsin 44; schädigend 44. 181.
Karbolglyzerinfuchsin 44.
Karbolgentianaviolett 43. 54.
Karbolthioninlösung 54.
Karbunkel 343.
Karminlösung s. Pikrokarmin.
Kartoffelbazillen 215. 247. 290. 296. 309. 469. 499.
Kartoffelbohrer 108.
Kartoffelgelatine mit Jodkalium 109. 490.
Kartoffelkultur, Merkmale 214.
Kartoffeln als Nährmittel 107; für Anaerobier 146; mit Glyzerin f. Tb. 109. 355. 384.
Käse 473.
Katheterisierung 444; von Tieren 169.

Digitized by Google

Keimfreiheit, Erzielung 63—72.
Kelchgläser 24.
Kerionpilze 316.
Keuchhusten 383.
Keulenförmige Bazillen 308.
Kieselsäure als Nährsubstrat 77.
Klatschpräparate 210.
Klemmen an Stativen 28.
Knochen 356.
Knochenschere 178.
Kochen, Desinfektionswert 286.
Kochkolben 24; -töpfe 29.
Kochsalzlösung, physiol. = 0,85proz.
Kochvorrichtungen 509.
Kohlehydratspaltende Enzyme 233.
Kolbenschimmel 318.
Kolibakterien (s. auch Bac. coli comm.) 52. 308. 339. **405**. 487—490.
Kollodiumsäckchen 247.
Kolonien, Merkmale 209; Keimgehalt 121; Konservierung 133.
Komedonen 323.
Komplemente, Komplementoide 255.
Konidien 318.
Konservierung von Kulturen 131—134.
Kontaktthermometer 139. 143. 289.
Kopfschimmel 318.
Korkbohrer 26.
Korkstopfen 26.
Kraftwechsel in Kulturen 219.
Krankheitserregung 243.
Kreidenährboden 230.
Kristallbildung in Kulturen 210.
Krupp s. Diphtherie.
Kulturen, Merkmale 209—215.
Küpen 228.

L.

Lab 232.
Laboratoriumseinrichtungen 506—527.
Laboratorien, fliegende 441.
Lackmusblauneutralpunkt 81. 209.
Lackmuslaktoseagar 95. 414. 416.
Lackmusmolke 75. 229.
Lackmuspapier 28. 78.
Lackmustinktur, Bereitung 79. 229.
Laktoserum 279.
Lapine 334.
Leichen 319.
Leichenöffnung 320; v. Tieren 169—179.
Leichentuberkeln, -warzen 326.
Lepra 325. 367.
Leptothrix 312. 363. 375.
Leuchtbakterien 221. 309.
Leuchtgas für Anaerobier 150.
Leukozidine 337.
Licht 293.
Lipase 233.
Loefflers Blau 41; Serum 102.
Luft 496—498.
— heiße zur Desinf. 64. 285.
Luftausschluß für Anaerobiose 146. 147. 149.
Luftpumpen 15.
Luftröhre, Einspritzungen 167.
Lumbalpunktion 167. 350.
Lungen 375—402; Infektion 167.
Lungenentzündung 375—379.
Lupus 326.
Lymphspritze 175.
Lyssa s. Wut.

M.

m = mobilis 306.
Makkaroni 110.
Madurafuß und -hand 357.
Mageninhalt 402; Infektion 169.
Malachitgrünnährböden 96—98. 414. 415.
Malariaparasiten 462—465.
Mandelentzündung 373—375.
Mastzellen 55.
Maul- und Klauenseuche 365.
Mäuse 155; -halter 160; -impfung 160; -sektion 173—176; Leberveränderung 174.
Mäusefavus 315. 325.
Mäuseseptikämiebazillen 309.
Meerschweinchen 155. 157. 158; -halter 160.
Meningitis 351—353.
Merkaptane 226.
Mesophile Bakterien 216.
Meßgefäße 24.
Messungen an Bakterien 180.
Metachromasie 41.
Metachromatische Körperchen 181.
Methylalkohol z. Fixierung 42. 47. **461**.
— bei Gramfärbung 52.
Methylenazur 42.
Methylenblau 40; als Küpe 145.
Methylgrünpyronin 54. 449.
Methylorange 79.
Micrococcus agilis 196. 307.
— ascoformans 307.
— catarrhalis 307. **379**.
— gonorrhoeae 307. 360. 379. **448**.
— involutus tetragenus 307.
— meningitidis 240. 307. **351**. 361. 375. 380.
— Pflügeri 221.
— phosphoreus 221.
— equi 308.
— tetragenus 182. 247. 285. 307. 308. **339**. 375.
— ureae 233. 307.
— vesicae 307.
Mikrobrenner 14.
Mikrokokken 306. 308.
Mikrometer 9.
Mikrophotographie 528—531.
Mikroskop 1—13.
Mikroskopiertisch 507.
Mikrosporon 316.
Mikrotome 56.
Milch 465—473; als Nährmittel 75.
Milchreis 107.

Digitized by Google

Milchsäurebakterien 308. 467.
Milzbrandbazillen s. Bac. anthracis.
— asporogene 194.
Milzbrandsporen 72. 193. 281.
Minimalkulturen 317.
Mischwachs 28. 149.
Molekularbewegung 180. 195.
Molken 75.
Moschuspilz 226.
Mucilago gummi 28.
Mucor 318.
Muffen 28.
Müllersche Flüssigkeit 58.
Munderkrankungen 363—365.
Muzin 182.
Mycel 318.

N.

Nähragar 91; mit Serum 103.
Nährbouillon 98; mit Serum 102.
Nährgelatine 90; für Wasseruntersuchungen 479; mit Hefewasserglukose 230; Verflüssigung 232.
Nährstoff Heyden 78.
Nahrungsmittelvergiftungen 424—431.
Naphtholblaukörnchen 185.
Narkotisierung der Tiere 164.
Nasenkrankheiten 366.
Natronblau 41.
Negrische Körperchen 61. 353.
Neutralisierung der Nährmittel 79. 209.
Neutralrot 184.
Nieren, Bakterienausscheidung 445.
Nierenentzündung 446.
Nivellier- und Kühlapparate 115.
nl = non liquefaciens 306.
Normallösungen 78.
Nukleasen 235.
Numerische Apertur 6.
Nutrose 78.

O.

Obduktion s. Leichenöffnung.
Objektive 4.
Objekttisch 2. 11.
Objektträger 15; statt Deckgläser 45; durchlochte 317; hohlgeschliffene 16; Reinigung 16. 198; -halter 17; -kulturen 324.
Oblaten 110.
Oeffnungswinkel 6.
Oel, Sterilisierung 445.
Oelimmersion 5.
Ohrenkrankheiten 358—360.
Oidium 314; O. albicans 315.
Okulare 9.
Okularmikrometer 9.
Okularzählscheibe 9. 485.
Operationsbleche, -tische 160.
Operationsmäntel 512.
Opsonine 248.
Orcein 54.
Organe, nicht keimfrei entnommene 322.
Oesenbieger 18.
Osteomyelitis 337. 338. 356.
Ozäna 367.

P.

p = peptonificans 306.
Panaritium 343.
Papinscher Topf 68.
Paraffin für Schnitte 58—60; zum Verschluß 133; flüssiges 154.
Paraffinschrank 57. 102.
Parallelkultur 215. 407.
Paratyphus 410.
Passage durchs Tier 246.
Pathogenität 243.
Pemphigus vegetans 324.
Penicillium 319; P. brevicaule 224.
Pepton 77.
Peptonisierende Fermente 232.
Perithezien 319.
Peritonitis 355.
Perlsuchtbazillen 385.
Pest 342; Schutzimpfung 260; Agglutination 277; Behälter f. Pesttiere 158.
Petroleumkocher 510.
Pfeifferscher Versuch 265. 267.
Pflaumendekokt 110.
Phagozytose 248.
Pharyngitis leptothricia 375.
Phenanthren 289.
Phenolphthalein 79. 229; -neutralpunkt 81. 209.
Phlegmone emphysematosa s. Gasphlegmone.
Phosphate im Fleisch 81.
Phytalbumosen 250.
Pikrinsäuremethylviolett 52.
Pikrokarmin 49. 52.
Pilzinfus als Nährsubstrat 222.
Pinselschimmel 319.
Pinselverfahren zur Aussaat 125.
Pinzetten 17.
Pipetten 25.
Plankton 474.
Plasmazellen 55.
Plasmine 239.
Plasmodien s. Malaria.
Plasmolyse und Plasmoptyse 207.
Plastilin 133.
Platindrähte, -nadeln und -ösen 18.
Plattenkulturen 112—126; f. Anaerobier 148.
Plazenta als Nährsubstrat 73.
Pleuritis 354.
Pneumokokken- u. -bazillenfärbung 54.
Pneumonien 375—379.
Pocken 334.
Präparatenmappen 16.
Präpariermikroskop 3.
Präpariernadeln 18.
Präzipitation 278—280.
Präzipitine, Präzipitinoide 254. 279.

Digitized by Google

Proteine 238.
Proteolytische Fermente 232.
Proteusarten 309. 427. 499.
Proteus vulgaris 226. 341; Pr. fluorescens; mirabilis; Zenkeri 309. 341.
Protokollbuch 512.
Psychrophile Bakterien 216.
Ptomaine 237.
Pustula maligna 343.
Pyocyanase 235.

Q.

Quetschhähne 28.

R.

Radiumstrahlen 294.
Ratten 156. 157. 158; -halter 160.
Rauch zu Desinfekt.-Vers. 301.
Reagenzgläser 20; für Kartoffeln 109.
Reagenzglashalter 20. 317.
Reagenzglaskulturen 147. 151. 211.
Reduktionsmittel 145.
Reduzierende Eigenschaften 222—225.
Regeln f. Arb. im Labor. 512—514.
Reibegläschen 178. 179.
Reibschalen 24.
Reinigung gebr. Züchtungsgefäße 71.
Reinkulturen 125. 129. 209—215.
Reiseausrüstungen 441. 477.
Reisemikroskop 4.
Reisscheiben 107.
Rezeptoren 251. 252; freie 240; sessile 258.
Rhinosklerom 367.
Riechende Stoffe von Bakterien 225.
Rollplatten, -röhrchen 120. 122. 133. 147.
Röntgenstrahlen 294.
Rotlauf des Menschen 331.
— der Schweine s. Bac. erysipel. suum.
Rotstichigkeit des Methylenblau 41.
Rotz 54. 327—330; amtl. Vorschr. 129.
Rückenmark, Herausnahme 176.
Rückfallfieber 458.
Rückschlagventil 15.
Ruhrerkrankungen 420—424.

S.

Saccharomyces 313. 314.
Safraninlösung 51.
Salzsäurealkohol 52.
Sammlung von Kulturen 127.
Sandbad 29.
Sarzinen 308.
Sauerstoffbedürfnis 144.
Saugpumpen 15.
Säurebildung 228—230.
Säurefeste Keime 189. 308. 388—390.
Säuren 296.
Schalenkulturen 119. 123. 133.
Schanker, weicher 453.
Scharlach 331.
Scharlachdiphtherie 372.
Schaumorgane 319.
Scheide 452.
Scheidetrichter 24.
Schimmelpilze 317. 356. 360. 367.
Schizomyzeten 303.
Schlittenobjektivwechsler 2.
Schmelztiegelzange 24.
Schnellhärtung und -einbettung 60.
Schnittpräparate 56—62; Färbg. n. Gram 51; durch Stichkulturen 213; bei Spirochaete pallida 456.
Schöpfgefäße 476.
Schuppen der Haut 323.
Schüttelapparat 502.
Schutzimpfungen 259.
Schwefelbakterien 313.
Schwefelwasserstoffbildung 226.
Schweflige Säure 301.
Schweineserum zu Nährböden 104.
Seidenfäden zu Desinf.-Vers. 282.
— zur Konservierung v. Bakt. 285. 321.
Seitenketten 251.
Sektion s. Leichenöffnung.
Selen zu Nährböden 223; beim Arsennachweis 225.
Serodiagnostik 264—280.
Seröse Exsudate 354.
Sicherheitspipetten 25.
Signierapparate 21.
Simultanimpfungen 262.
Smegmabazillen 390.
Soor 365; -pilze 315.
Speicheldrüsen als Nährmittel 73.
Spermatozide Substanzen 256.
Spezifisches Gewicht der Bakt. 208.
Spießförmige Bazillen 309. 341.
Spirillaceae 303. 304.
Spirillen 310; im Eiter 341; im Wasser 490; im Mund 363.
Spirillum s. auch Vibrio.
— concentricum 310; nigrum 310. 341; parvum 35. 310; pyogenes 310. 341; rugula, serpens, undula majus und minus 310; volutans 184. 310.
Spiritusbrenner 13. 510.
Spirochäten 311; Spir. dentium 363. 364; Obermeieri 459; pallida 455; refringens 457.
Spitzgläser 24.
Sporangium 318.
Sporen 187—194; Ektosporen 316; Auffindung im Darminhalt 428.
Spritzen 161—163. 166. 175.
Spritzflasche 19.
Sproßpilze, -verbände 313.
Spülküche 508.
Sputum s. Auswurf.
Staphylococcus pyogenes aureus 220. 252. 336. 337. 343; Hämolysinvers. 236; Testobjekt f. Desinf.-Vers. 281.
— (pyogenes) albus 338. 446.
— quadrigeminus 334.

Digitized by Google

Staphylokokken 307.
Stativ mit Zubehör 28.
Sterigmen 319.
Sterilisierung 63—72; durch Chemikalien 71; von Blutserum 100.
Stich-, Strichkulturen 127; Merkmale 212; Schnitte 213.
Stifte zum Schreiben auf Glas 28.
Stomatitis aphthosa und ulcerosa 365.
Strahlenpilz s. Aktinomyces.
Streptobacillus ulceris mollis 453.
Streptobazillen 308.
Streptococcus brevis und longus 306. 332.
— lacticus 467.
— mitior s. viridans 333.
— mucosus 307. 353. **359**. 379.
— pneumoniae 378.
Streptokokken 306. **332**. 468. 469.
Streptokokkenenteritis 442.
Streptokokkenfieberkurve 384. 402.
Streptothrix 311. 362. 499.
Strukturbild 8.
Stückfärbung 59.
Sycosis 316.
Symbiose f. Züchtung von Influenzabaz. 382.
Syphilis 454—458.

T.

Tannin bei der Färbung 197. 328. 329.
Tellur zu Nährböden 223; beim Arsennachweis 225.
Temperaturmessungen bei Tieren 160. 170.
Temperaturoptimum 216.
Teratologische Formen 207.
Terminkalender 512.
Tetanus 348; -antitoxin 263.
Tetradenkokken s. Micrococc. tetrag.
Thallus 318.
Thermometer 26.
Thermophile Bakterien 216. 308. 309. 404.
Thermoregulatoren 137—140; f. elektr. Heizung 141; f. Petroleumbrütschränke 142; nach Ostwald 297.
Thermostaten s. Brütschränke.
Thiothrix 312.
Tierhaare für Desinf.-Vers. 281. 286; Desinf.-Apparate dafür 289.
Tierversuch 155—179.
Tische für Laboratorien 508.
Titer eines bakteriolytischen Serums 265.
Toxine und Toxoide 250. 251.
Traubenzucker zu Nährböden 93. 102.
Trennung von Keimen 111. 146. 147.
Trichomyzeten 311.
Trichophytiepilze 316. 325.
Trichter 24.
Trockensterilisierungsschränke 64.
Trocknung mikroskop. Präparate 46. 47.
Tropäolin 328.
Tröpfchenkultur 39.
Tropfflaschchen 22.
Tropon 78.
Trypsin 232.
Tuberkelbazillen 383—388; Wirkung abgetöteter 238; Dosierung zur Infektion 244; Nachweis in: Auswurf 391—402; Butter 472; Fäces 443; Harn 447; Luft 496; Milch 470; Nase 366; Ohr 359; Pleuritis 355; Schnitten 400; Zähnen 364.
Tuberkulin 239. 402.
Tuberkulose 326. 383—402. 447.
Typhöse Erkrankungen 406—420; Diagnose 411.
Typhusserum, agglutinierendes 272; bakteriolytisches 266; Schutzimpfung 260. 409.

U.

Uhrgläser 23.
Ulcus corneae serpens 361. 378.
— molle 453.
Umzüchtungen 127.
Unizeptoren 251.
Unlösliche Mittel z. Desinf. 300.
Urease 233.
Urethritis pseudogonorrhoica 453.

V.

Vaccin 244.
Vakuumabdampfapparate 242.
Vakzine- und Pockenpusteln 334.
Vegetabilische Nährmittel 107. 110.
Vegetative Formen 187.
Verbrennung von Tieren 176.
Vergrößerung der Mikroskope 5.
Vermehrungsgeschwindigkeit 217.
Versandgefäße für Darminhalt u. dgl. 403. 437; von Cholerakulturen 437; von Milzbrandblut an Gips 346; für trockene Proben 285. 321; von Mandelabstrichen 346.
Versendung lebender Kulturen 131.
Versuchstiere s. Tierversuch.
Verzweigungen von Bakterien 206. 311.
Vesuvin 51.
Vibrio cholerae 187. 310. **481**.
— Massauah 310.
— Metschnikoff 232. 310.
— Milleri 215.
— Nasig 250.
— proteus (Prior-Finkler) 310.
— Rumpel 221.
Vibrionen 310.
Vibrion septique 347.
Virulenz 243—247.
Virus fixe 176.
Volutanskugeln 184.
Vorschriften, amtliche, über Arbeiten und Verkehr mit Krankheitserregern 129.
Vulvovaginitis kleiner Mädchen 453.

Digitized by Google

W.

Wagen 30. 159. 170.
Wärme, Fortkommen bei verschied. 215.
Wärmebildung in Kulturen 219.
Warmwassertrichter 84.
Wasser 473—496.
Wasserbad 29; siedendes zur Prüfung der Widerstandsfähigkeit 192.
Wasserimmersion 4.
Wasserstoff f. anaerobiot. Züchtung 149 bis 154.
Wasserstrahlluftpumpe 15.
Wasserversorgung v. Laboratorien 511.
Widerstandsfähigkeit d. Bakt. 190—194.
— des Körpers 258.
Wirkung d. Mikroorg. im Körper 247.
Wuchsformen, auffallende 206.
Wundstarrkrampf 348.
Wurstvergiftung 424. 428—431.
Wurzelförmige Bazillen s. Bac. mycoides.
Wut 61. 176. 353.

Z.

Zählung von Kolonien auf Platten 484 bis 487.
— von Bakt., mikroskop. 218.
— von Tb. in Ausstrichen 397.
Zähne 363.
Zeichenapparat 9.
Zellgewebsentzündungen und Ausgänge 335—348.
Zellkerne, ausgestrichene 46.
Zelloidinschnitte 62.
Zentrifugen 31—33.
Ziehlsche Lösung 44.
Zoogloea 38.
Zucker 93; Beseitigung aus Fleisch 89. 229.
Zuckerrübe 110.
Zungenbelag 365.
Zylinder für Präparate 21.
Zymase 233. 313.
Zytolysine 256.

Digitized by Google

Tafel I.

Digitized by Google

Nr. 1. **Pneumoniekokken. Diplococcus lanceolatus** im Ausstrich aus der Milz einer Maus nach Gram gefärbt. Die Kapsel ist nicht sehr deutlich begrenzt, vielmehr nur als heller Hof um die Bakterien vorhanden.

Nr. 2. **Pneumoniekokken. Diplococcus lanceolatus;** Kultur aus der Milz der Maus auf Zuckeragar, 1 Tag alt, nach Gram gefärbt. S. 377. Die Pneumokokken erscheinen in der Kultur meistens als Diplokokken und kurze Ketten: eine so lange wie die rechts gelegene kommt nicht häufig vor. Alle Bakterien des Präparats zeigen eine helle Randzone, ein Ektoplasma, das im parasitären Zustande, also im Körper des befallenen Individuums, quillt und sich mit Schleimsubstanz anfüllt.

Nr. 3. **Pneumoniekokken. Streptococcus pneumoniae.** Zwischenform zwischen Pneumo- und Streptokokken. Ausstrich aus der Milz der Maus. Karbolfuchsin. Die Kokken und Diplokokken sind kleiner als bei 1 und 2; die helle Randzone ist ein Ausdruck der Kapsel wie bei 1.

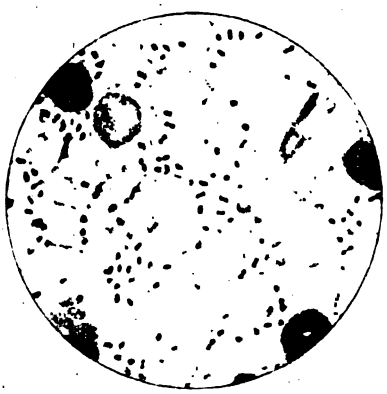
Nr. 4. **Pneumoniekokken. Streptococcus pneumoniae.** Bouillonkultur aus der Mausmilz mit ziemlich langen Ketten. S. 354 und 378.

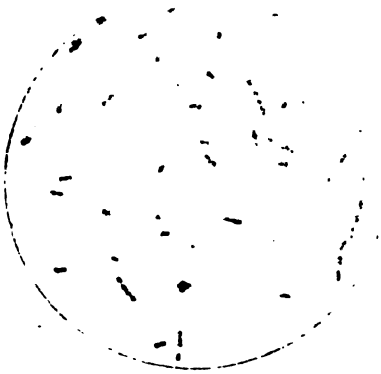
Nr. 5. **Pneumoniekokken. Diplococcus lanceolatus.** Kolonien auf Agar 1 Tag alt, aus Eiterausstrich. 20fach.

Nr. 6. **Friedländersche Bazillen der Pneumonie.** Ausstrich aus der Leber einer grauen Maus, die aus einer Pneumonielunge geimpft worden war. 2proz. wäßriges Gentianaviolett. Die Kapseln sind hier infolge kräftiger Färbung der Randbegrenzung deutlich ausgeprägt. S. 181 und 378.

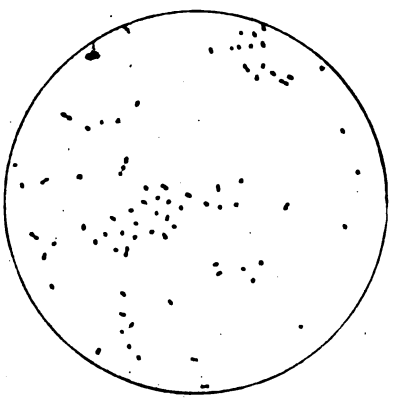
Digitized by Google

1

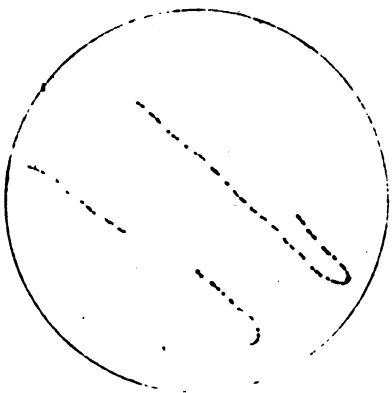




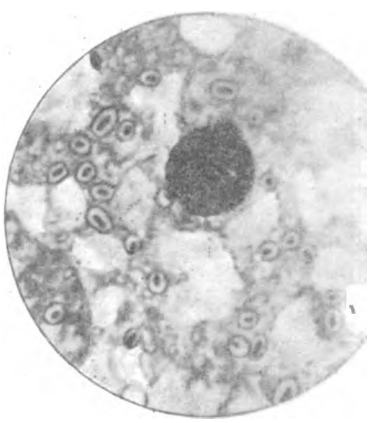
3



4



5



Digitized by Google

...moniekokken. **Diplococcus lanceolatus** im Ausst...
...Mäuse nach Gram gefärbt. Die Kapsel ist nicht ...
...so mehr nur als heller Hof um die Bakterien vorhan...

Pneumoniekokken. Diplococcus lanceolatus: Kultur ...
...auf Zuckeragar, 1 Tag alt, nach Gram gefärbt. S. 377.
...ben erscheinen in der Kultur meistens als Diplokokken ...
...eine so lange wie die rechts gelegene kommt nicht hor...
...terien des Präparats zeigen eine helle Randzone, ein Z...
...im parasitären Zustande, also im Körper des befallenen Tie...
...kapsel und sich mit Schleimsubstanz anfüllt.

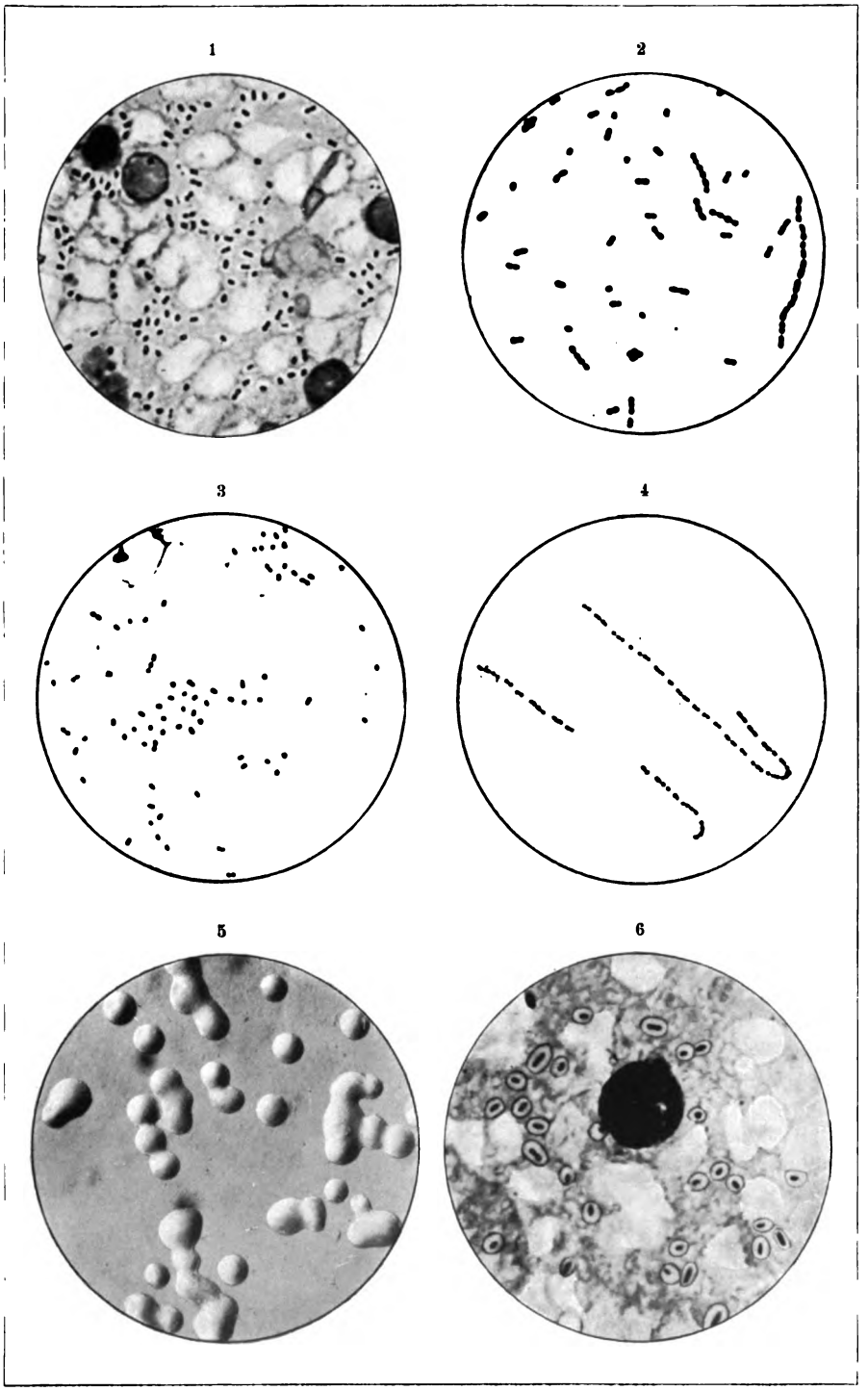
3. **Pneumoniekokken. Streptococcus pneumoniae.** Zwischen...
...chen Diplokokken und Streptokokken. Ausstrich aus der Milz ei...
...verbreiteten Tiere. Die Kokken und Diplokokken sind kleiner als ...
...2 die helle Randzone ist ein Ausdruck der Kapsel wie bei 1.

...4 **Pneumoniekokken. Streptococcus pneumoniae.** Bouill...
...aus der Mäusemilz mit ziemlich langen Ketten. S. 354 und 378.

Nr. 5 **Pneumoniekokken. Diplococcus lanceolatus.** Kolo...
...Agar 1 Tag alt, aus Ausstrich. 20fach.

Nr. 6. **Friedländersche Bazillen der Pneumonie.** Ausstrich aus ...
...der Leber einer grauen Maus, die aus einer Pneumonielunge geimpft worden ...
...war. 2proz. wäßriges Gentianaviolett. Die Kapseln sind hier infolge ...
...kräftiger Färbung der Randbegrenzung deutlich ausgeprägt. S. 181 und 378.

Digitized by Google



Digitized by Google

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY
OF
CALIFORNIA

Digitized by Google

Tafel II.

Digitized by Google

Nr. 7. **Streptococcus mucosus.** Abstrich von einer Agarkultur 2. Generation von der Maus weg. Gramsche Färbung. Die Schleimkapsel ist hier in der Kultur zu sehen, wenn auch ihre Begrenzung nicht so scharf ist wie im Tierkörper, wo hingegen die Neigung zur Kettenbildung sehr gering ist; dort finden sich wie bei den Pneumoniekokken meistens nur gekapselte Kokken und Diplokokken. S. 359.

Nr. 8. **Streptococcus pyogenes (brevis),** aus Phlegmone auf Agar gezüchtet. Fuchsin. S. 332. In ihrer Anordnung als einzelne Kokken, Diplokokken und kurze Kettchen sehen sie den Pneumoniekokken ähnlich, sind aber kleiner als sie und unterscheiden sich unter anderem durch die längere Lebensfähigkeit in Kulturen und die Wirkung auf Tiere von ihnen.

Nr. 9. **Streptococcus pyogenes.** Agarkultur mit maschenförmigem Gefüge aus Eiter. 100fach. S. 332.

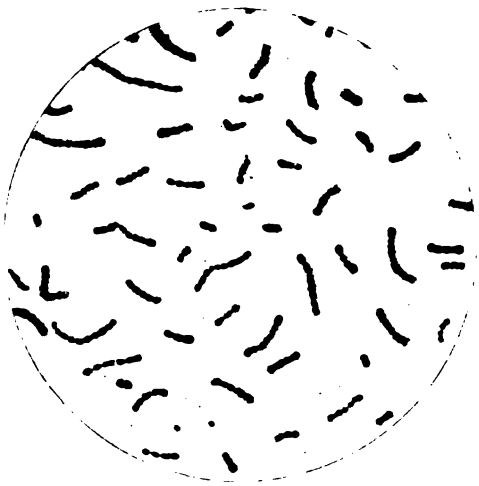
Nr. 10. **Streptococcus pyogenes (longus).** 2 Tage alte Bouillonkultur aus Mausmilz. Fuchsin. Die Diplokokken sind bis über 50 an Zahl durch ein Ektoplasma verbunden zu perlschnurartigen Gebilden aneinander gereiht. Rechts sieht man eine Verzweigung des Ektoplasmas und damit der Streptokokken. S. 206, 311 und 333.

Nr. 11. **Micrococcus tetragenus.** 1 Tag alte Kultur auf Agar. 100fach. Die die Ansiedlungen zusammensetzenden Plättchen sind in ähnlicher Vierteilung angeordnet wie die einzelnen Tetradenkokken, von denen sie gebildet werden. Die Kolonien sehen ebenso aus wie die von Sarzinen.

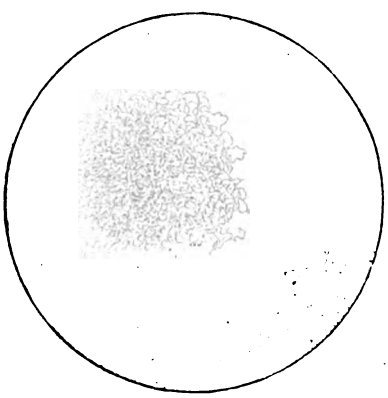
Nr. 12. **Micrococcus tetragenus.** Ausstrich aus dem Peritoneum einer geimpften Maus. Die Kokken selbst unterscheiden sich in nichts von Sarzinen; die breite Schleimkapsel dagegen ist nur im parasitären Zustande so ausgesprochen. S. 339.

Digitized by Google

7

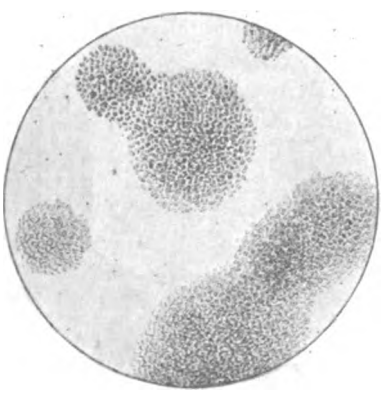


9



10

11



Digitized by Google

Nr. 9. **Streptococcus mucosus.** Abstrich von einer Agarkultur 2. Generation aus der Milz einer Maus weg. Gramsche Färbung. Die Schleimkapsel ist in dieser Kultur zu sehen, wenn auch ihre Begrenzung nicht so scharf ist wie bei Pneumokokken, wo hingegen die Neigung zur Kettenbildung sehr gering ist und sich meist finden sich wie bei den Pneumoniekokken meistens nur Diplokokken und Diplokokken. S. 359.

Nr. 10. **Streptococcus pyogenes (brevis)**, aus Phlegmone auf Agar gezüchtet. Fuchsin. S. 332. In ihrer Anordnung als einzelne Kokken, Diplokokken und kurze Kettchen sehen sie den Pneumoniekokken ähnlich, sind aber kleiner als sie und unterscheiden sich unter anderem durch die Gelatineverflüssigungsfähigkeit in Kulturen und die Wirkung auf Tiere von ihnen.

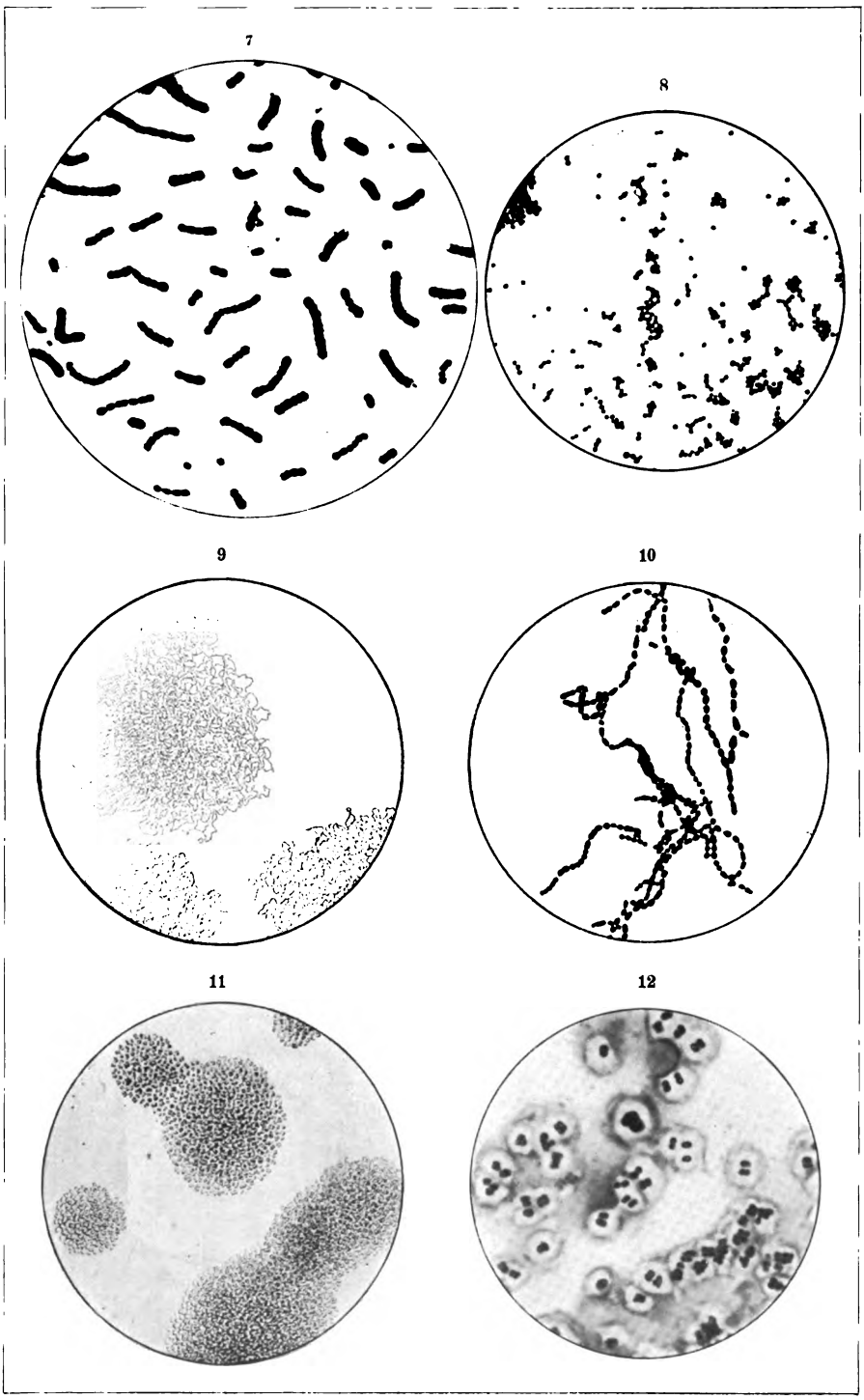
Nr. 11. **Streptococcus pyogenes.** Agarkultur mit maschenförmigen Ketten aus Eiter. 100fach. S. 332.

Nr. 12. **Streptococcus pyogenes (longus).** 2 Tage alte Bouillonkultur in Mischung mit Fuchsin. Die Diplokokken sind bis über 50 an Zahl durch Ektoplasma verbunden zu perlschnurartigen Gebilden. Rechts sieht man eine Verzweigung des Ektoplasmas [illegible] Kokken. S. 206, 311 und 333.

Nr. 11. **Micrococcus tetragenus.** 1 Tag alte Kultur auf Agar 100fach. Die eine Abteilungen zusammensetzenden Plättchen sind in ähnlicher Vierteilung angeordnet wie die einzelnen Tetradenkokken, von denen sie gebildet werden. Die Kolonien sehen ebenso aus wie die von Sarzinen.

Nr. 12. **Micrococcus tetragenus.** Ausstrich aus dem Peritoneum einer geimpften Maus. Die Kokken selbst unterscheiden sich in nichts von Sarzinen; die breite Schleimkapsel dagegen ist nur im parasitären Zustande so ausgesprochen. S. 339.

Digitized by Google



Digitized by Google

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY
OF
CALIFORNIA

Digitized by Google

Tafel III.

Digitized by Google

Nr. 13. **Staphylococcus pyogenes aureus.** Kolonien auf Agar aus Panaritium. 40mal. S. 336.

Nr. 14. **Staphylococcus pyogenes aureus.** Abstrich von der Agarkultur. Fuchsin. Die Staphylokokken lassen sich nicht immer scharf begrenzt darstellen, weil sie teilweise durch eine plasmatische oder schleimige Schicht verbunden sind, die den Farbstoff schwach annimmt.

Nr. 15. **Gonokokken.** Reinkultur auf menschlichem Blutserum-Agar; 2 Tage alt; 1. Generation. Fuchsin.

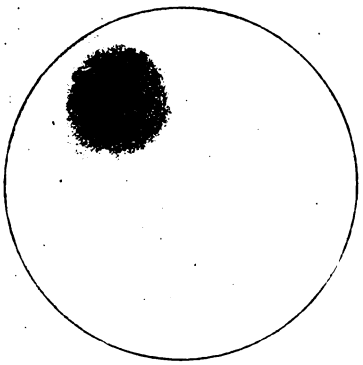
Nr. 16. **Meningokokken.** Reinkultur auf Loefflerschem Blutserum, 1 Tag alt. S. 352.

Nr. 17. **Gonokokken.** Ausstrich von Trippereiter. Violett. S. 448.

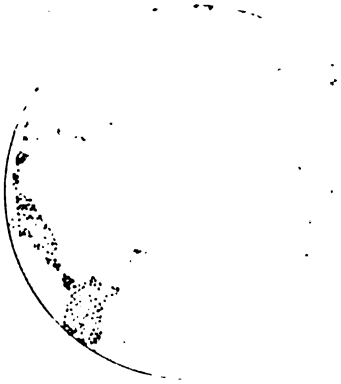
Nr. 18. Ausstrich des Nasensekrets einer auf Meningitis verdächtigen Person. Möglicherweise liegt Micrococcus catarrhalis vor. Die Kokken sind wesentlich größer als die Gonokokken. Das über 8 Jahre alte Präparat war abgeblaßt und wurde mit verdünnter Gentianalösung nachgefärbt; danach erschienen Leukozyten und Kokken gequollen; vorher hatten sie kleiner ausgesehen. S. 380.

Digitized by Google

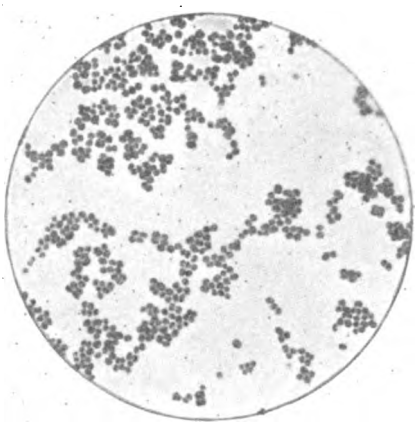
13



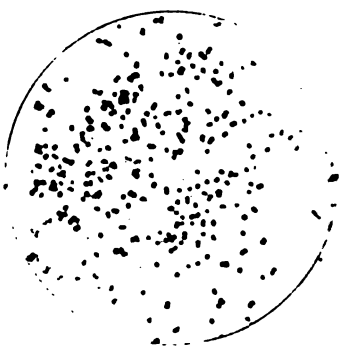
14



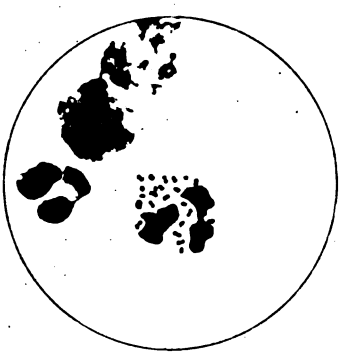
15

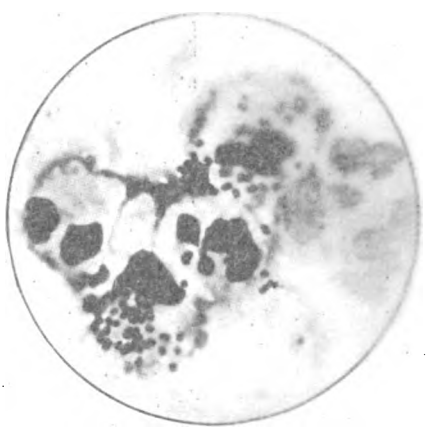


16



17





Digitized by Google

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY
OF
CALIFORNIA

Digitized by Google

Tafel IV.

Digitized by Google

Nr. 19. **Rotzbazillen.** 650fach. Ausstrich aus dem Eiter eines der Infektion erlegenen Meerschweinchens. Von den ziemlich spärlichen Stäbchen sind die in einem Haufen von Leukozyten gelegenen vier gekreuzten besonders deutlich.

Nr. 20. **Leprabazillen,** Schnitt durch die Haut, 650fach (Präparat von Herrn Unna). Die schwarzen Haufen sind die büschel- oder garbenförmig zusammengelagerten Bazillen. S. 325.

Nr. 21. **Tuberkelbazillen.** Ein Kavernenbröckel aus einer menschlichen Leiche wurde auf dem Objektträger zerdrückt. Die Bazillen sind teilweise länger und schmaler als im Sputum Nr. 23. Sie sind zu kleineren und größeren Massen vereinigt und zeigen verschiedentlich Verzweigungen. S. 395.

Nr. 22. **Streptothrix (Aktinomyces)** aus Kultur auf Glyzerinagar, 10 Tage alt. Fuchsin. Die Verzweigungen sind viel ausgesprochener und zahlreicher als bei Bakterien.

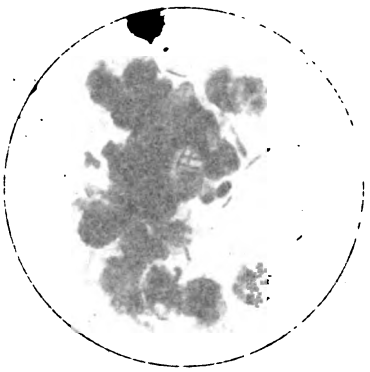
Nr. 23. **Tuberkelbazillen** im Sputum S. 395.

Nr. 24. **Smegmabazillen** aus Harn, gefärbt mit der Gabbetschen Methode, die man bei der Tuberkelbazillenfärbung nicht anwenden soll. Die Bazillen liegen im Plasma einer Epithelzelle, deren Kern nicht mehr mit ins Bild gekommen ist. Sie sind kürzer und plumper als Tuberkelbazillen. S. 390 und 394.

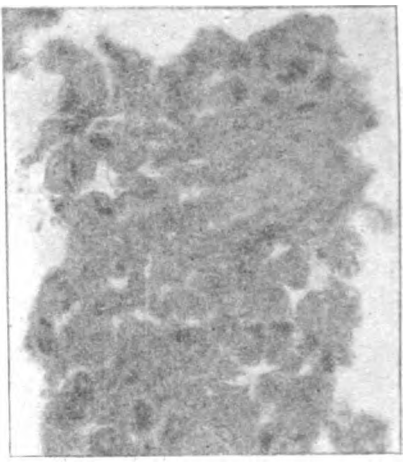
Nr. 25. Aus der **Mundflora.** Bakterien im Zahnstein. Der größte ist ein fusiformer Bazillus mit deutlich erkennbarem Ektoplasma (ungefärbte Hülle). Außerdem sieht man einige Vibrionen und lange Spirochäten, die durch die Karbolfuchsinfärbung teilweise körnig erscheinen. S. 363, 373 und 458.

Digitized by Google

19



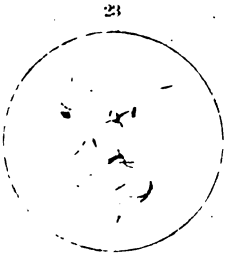
20



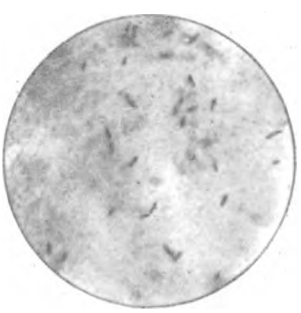
21

22

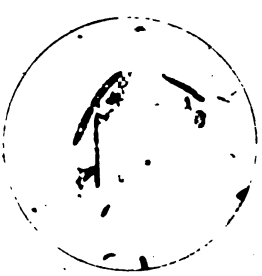
23



24



25



Digitized by Google

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY
OF
CALIFORNIA

Digitized by Google

Tafel V.

Digitized by Google

Nr. 26. **Diphtheriebazillen** im Ausstrich einer Kruppmembran aus der Trachea. Gramsche Färbung. Die Form und typische Lagerung der Bazillen und ihre Massenhaftigkeit läßt im Zusammenhalt mit der Herkunft des Objekts kaum einen Zweifel an der Richtigkeit der Diagnose, die durch die Kultur gesichert wurde. S. 371.

Nr. 27. **Diphtheriebazillen** aus 20 Stunden alter Agarkultur auf Loefflers Serum, das anstatt mit Traubenzuckerbouillon mit Pferdeblutkuchenwasser bereitet worden war. Die Gramsche Färbung hat hier die Körnchen sehr deutlich in die Erscheinung treten lassen, wie sie sonst in der Regel mit der diagnostisch verwerteten Neißerschen Färbung darzustellen sind. S. 371.

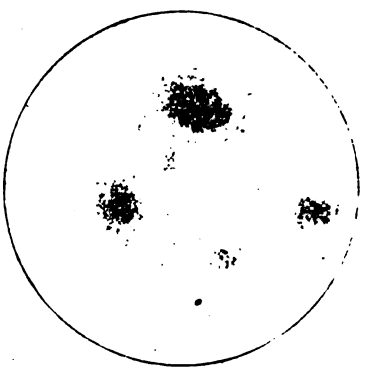
Nr. 28. **Diphtheriebazillen.** Kolonien, 1 Tag auf Glyzerinagar gewachsen. Nach S. 371 eignet sich zur Züchtung aus dem Körper Glyzerinagar nicht gut, sehr gut dagegen Loefflersches Serum. Es sollte hier nur die Form und Zeichnung der Kolonien auf dem durchsichtigen Nährsubstrat gezeigt werden.

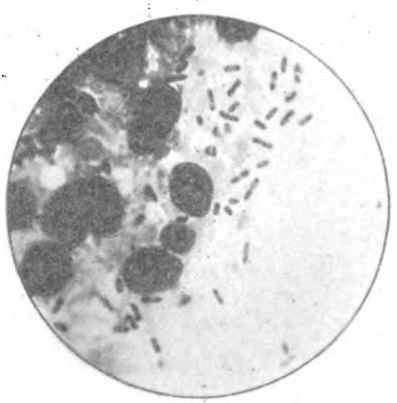
Nr. 29. **Bacillus lactis aerogenes.** Abstrich von einer 2 Tage alten Gelatinekolonie. Während die Ansiedlung selbst ähnlich wie die von Kolibakterien auszusehen pflegt (s. Nr. 40), haben die Einzelindividuen von ihnen abweichende Gestalt; sie nähern sich mehr den Friedländerschen Bakterien und zeichnen sich durch Neigung zu Involutionsformen aus. Solche sieht man hier in Gestalt der kurzen Stäbchen und Scheinfäden verschieden in Länge und Breite, und in Gestalt von Verzweigungen, von denen zwei Y-Formen sehr deutlich sind. S. 207 und 311.

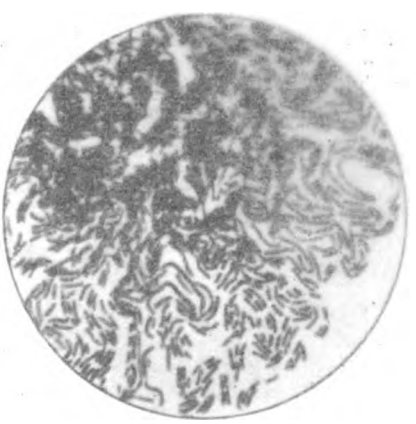
Nr. 30. **Pestbazillen.** Milzausstrich vom Menschen; mit verdünntem Karbolfuchsin und Spiritus behandelt. Die länglichen Bazillen zeigen öfters Polfärbung, die noch besser hervortritt, wenn man den Alkohol zur Fixierung verwendet. S. 342.

Nr. 31. **Pestbazillen,** wachsen auf Gelatine in kürzeren oder längeren, oft gebogenen Scheinfäden. S. 342. Abklatsch von 2 Tage alter Gelatineplatte. Fuchsin.

Digitized by Google







Digitized by Google

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY
OF
CALIFORNIA

Digitized by Google

Tafel VI.

Digitized by Google

Nr. 32. **Diplobacillus Morax-Axenfeld.** Ausstrich aus dem Konjunktivalsekret, gefärbt mit sehr verdünnter Gentianaviolettlösung. Unter den besonders reichlich getroffenen Bazillen fallen einige durch eine helle Randzone auf, die keine Kapsel, sondern lediglich Ektoplasma ist. S. 362.

Nr. 33 und 34. Der **Koch-Weekssche Bacillus** der epidemischen Konjunktivitis. Die massenhaft in dem Leukozyten gelegenen Bazillen sind etwas länger als die Schweinerotlaufbazillen, die wenigen in Fig. 34 vorhandenen Stäbchen kommen an Größe mehr den Influenzabazillen nahe. Fuchsin. Präparat von Herrn Th. Axenfeld.

Nr. 35. **Influenzabazillen.** 1 Tag alte Kolonien auf Agar, der mit Blut bestrichen war, aus Sputum. 21fach. Die Neigung zum Zusammenfließen ist gering. Die kleinen schwarzen Pünktchen rühren von roten Blutkörperchen her. S. 381.

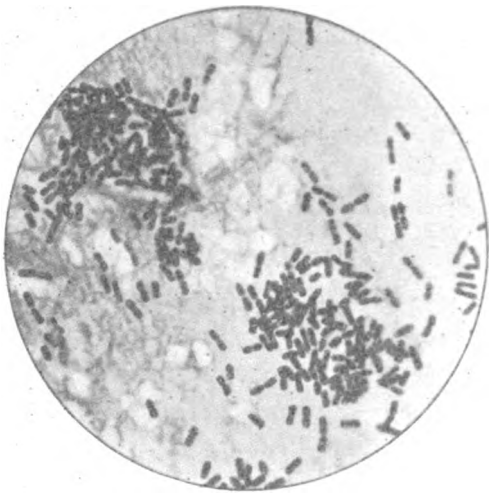
Nr. 36. **Influenzabazillen** im Nasensekret. Fuchsin. Die schwarmartige Anordnung im ausgestrichenen Schleim ist bezeichnend. S. 381.

Nr. 37. **Schweinerotlaufbazillen;** Abstrich von 1 Tag alter Agarplatte aus der Maus. Gramsche Färbung. Die Bazillen liegen nicht immer derart einzeln; in anderen Kulturen trifft man kürzere und längere Scheinfäden. S. 442.

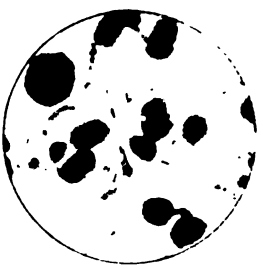
Nr. 38. **Bac. proteus fluorescens,** der Erreger des infektiösen Ikterus. 650fach. Abklatsch von einer Stelle, wo ein verflüssigter und ein nicht verflüssigter Bezirk aneinander grenzten. S. 341 und 446. Die rechts liegenden kurzen Glieder gehören dem Teil an, wo die Verflüssigung bereits eingesetzt hat. Präparat von Herrn H. Jaeger.

Digitized by Google

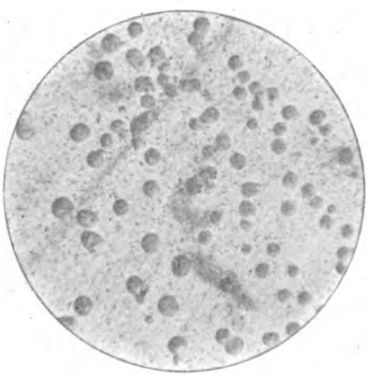
32



34

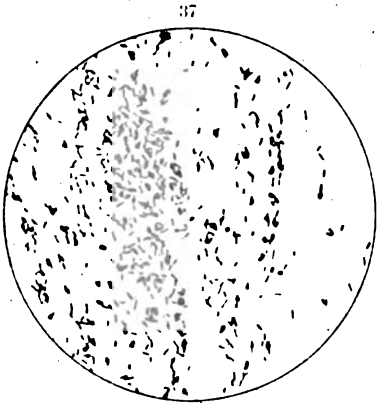


35



36

37



38

Digitized by Google

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY
OF

Digitized by Google

Tafel VII.

Digitized by Google

Nr. 39. **Kolikolonie,** 10fach; noch nicht die größte der aus der III. Verdünnung von normalem Stuhl 3 Tage auf Gelatineplatte gewachsenen Ansiedlungen. S. 405.

Nr. 40. **Kolikolonie,** 22fach, ebenfalls aus der III. Verdünnung eines anderen Stuhls. Dieser Typus ist sehr häufig, es kommen außerdem noch andere, z. B. solche vor, in denen innerhalb der Kolonie nach dem Rande hin eine zarte strahlige Zeichnung bemerkbar ist. Die vorliegende Kolonie ist deutlich blätterrippenartig gezeichnet, ähnlich der Typhuskolonie.

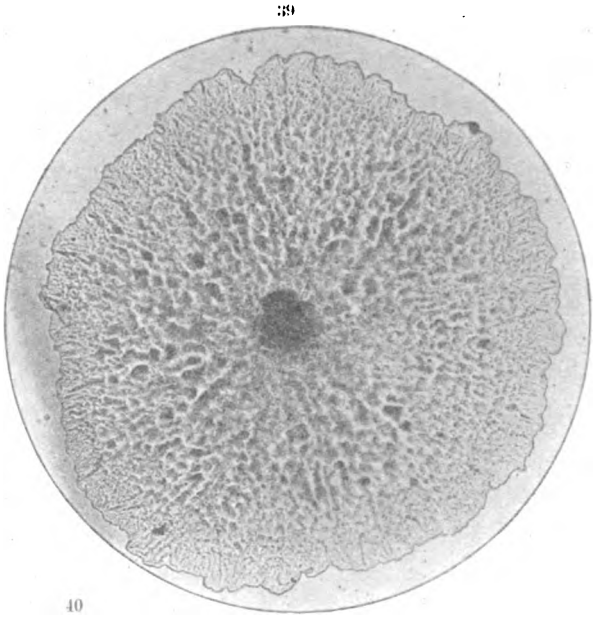
Nr. 41. **Kolibazillen** aus dieser Kolonie.

Nr. 42. **Typhuskolonie,** 22fach, 3 Tage auf Gelatineplatte der II. Verdünnung gewachsen; rechts unten von ihr ist eine kleine, runde, tiefliegende Ansiedlung gelegen. Die blätterrippenartige Zeichnung der aufliegenden ist wohl ausgeprägt. S. 407.

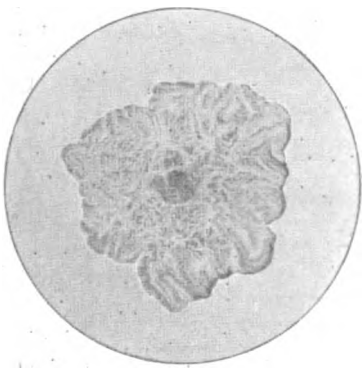
Nr. 43. **Typhusbazillen** aus einer Gelatinekultur. Die auf Gelatine gewachsenen Typhusbazillen zeichnen sich durch ihre Neigung zur Bildung kürzerer oder mittellanger Scheinfäden aus. S. 406.

Digitized by Google

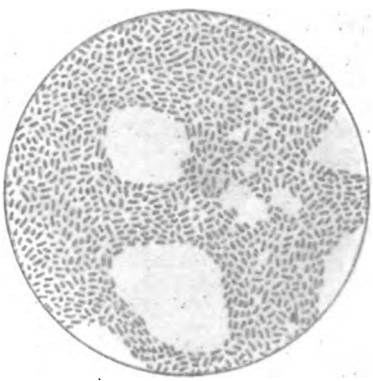
39



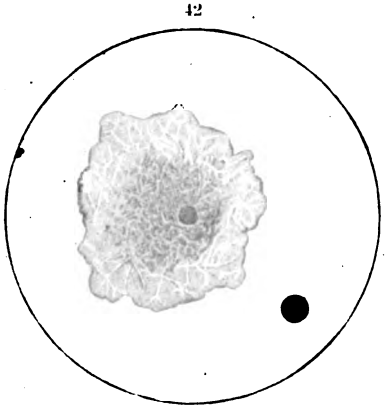
40



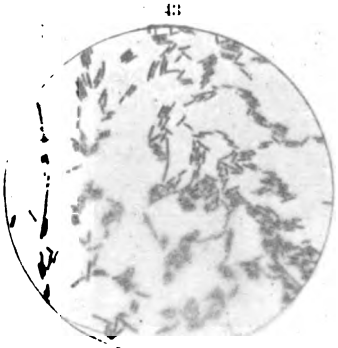
41



42



43



Digitized by Google

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY
OF
CALIFORNIA

Digitized by Google

Tafel VIII.

Digitized by Google

Nr. 44. **Typhusbazillen** mit Geißeln, gefärbt nach E. Zettnow. Das Präparat stammt aus einer formalinisierten, dann agglutinierten Bouillonkultur. S. 268 und 406.

Nr. 45. **Typhusbazillen** im Abklatsch von einer 1 Tag alten Agarplatte. Fuchsin. Die Formen sind hier kurz; Scheinfäden, wie auf Gelatine, fehlen. S. 406.

Nr. 46. **Ruhrbazillen** aus einer 20 Stunden alten Agarkultur. Fuchsin. S. 421.

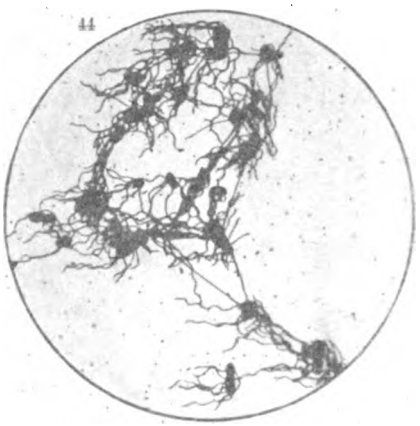
Nr. 47. **Ruhrbazillen** aus einer 2 Tage alten Gelatinekultur. Violett. Unterschiede zwischen den auf Agar und Gelatine, also bei Brütschrank- und Zimmerwärme gewachsenen Formen bestehen auch hier, sind aber nicht so bedeutend wie bei Typhusbazillen.

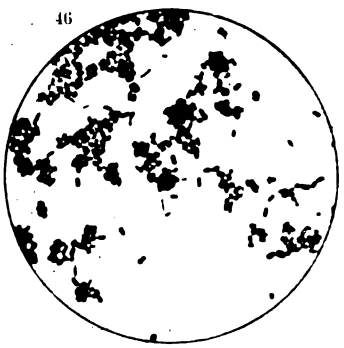
Nr. 48. **Bac. enteritidis Gärtner.** Abstrich von der Impfstelle einer Maus. Fuchsin. Die Bazillen zeichnen sich wie diejenigen der ganzen Gruppe, aber auch viele andere, durch ein ziemlich breites Ektoplasma aus, das besonders in diesem Präparate ausgesprochen ist. S. 181 und 425.

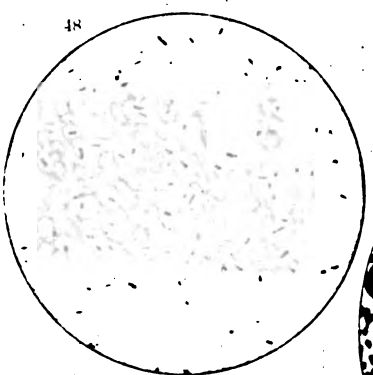
Nr. 49. **Bac. enteritidis Gärtner.** Kolonie auf 3 Tage alter Gelatinescheibe, 65fach. Die Zeichnung ist deutlich verschieden von der einer Kolikolonie; es kommen aber auch ähnlichere vor. S. 425.

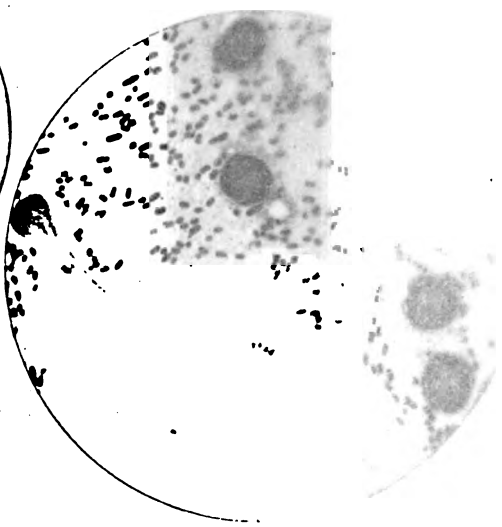
Nr. 50. **Neapler Bazillen** aus der Lunge eines mit Reinkultur infizierten Meerschweinchens. Es handelt sich um eine von R. Emmerich beim Cholerakranken in Neapel isolierte Koliart. Das Bild soll ein Beispiel für das Aussehen eines ausgestrichenen Zellkerns geben. S. 46.

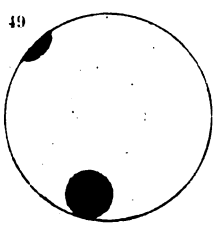
Digitized by Google











Digitized by Google

Digitized by Google

Tafel IX.

Digitized by Google

Nr. 51. **Milzbrandkolonie** auf Agar aus Mausmilz 2 Tage alt. 20fach. S. 345.

Nr. 52. **Bazillen des malignen Oedems.** Peritonealexsudat vom infizierten Meerschwein. Fuchsin. Wegen des Aussehens der gekrümmten Scheinfäden bei schwächerer Vergrößerung hat L. Pasteur den Namen Vibrion septique gewählt. S. 347.

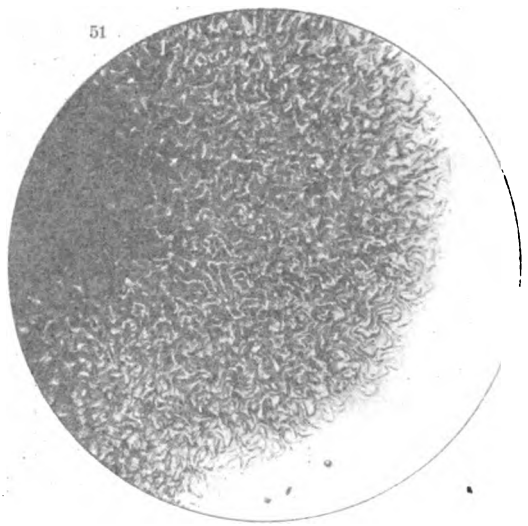
Nr. 53. **Tetanusbazillen** aus Agarkultur. Fuchsin. Das Präparat enthält einige sporenfreie Bazillen, sporentragende in Trommelschlegelform und freie Sporen. S. 348.

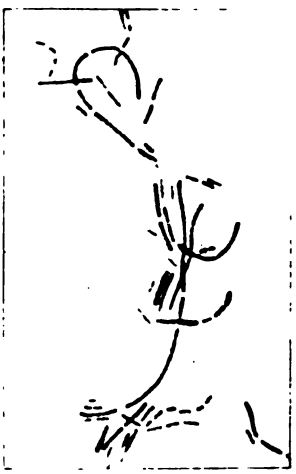
Nr. 54. **Milzbrandbazillen,** 1 Tag auf Agar aus Mausmilz bei 37° gewachsen. 650fach. In den schlierig angeordneten Scheinfäden liegen die jungen Sporen perlschnurartig aufgereiht.

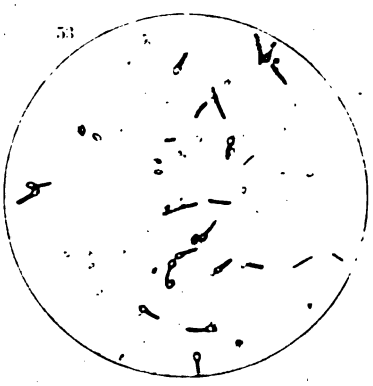
Nr. 55. **Milzbrandbazillen** im Ausstrich aus der Milz einer Maus. Die Färbung nach Johne hat die Schleimkapsel zur Darstellung gebracht. S. 344.

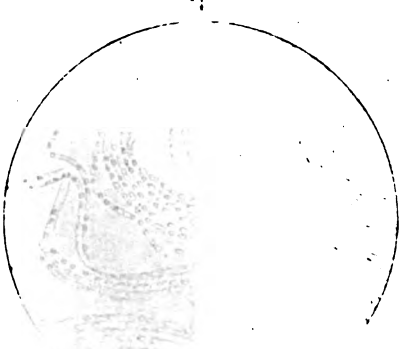
Nr. 56. **Bac. botulinus** aus 2 Tage alter Agarkultur. Färbung nach Gram. Außer sporenfreien Stäbchen sind einige klostridiumartige Formen vorhanden, in denen sich wahrscheinlich die Sporenbildung vorbereitet, ferner ausgebildete Sporen, die in einer dem Pole nahe gelegenen Anschwellung des Bacillus erscheinen. S. 427.

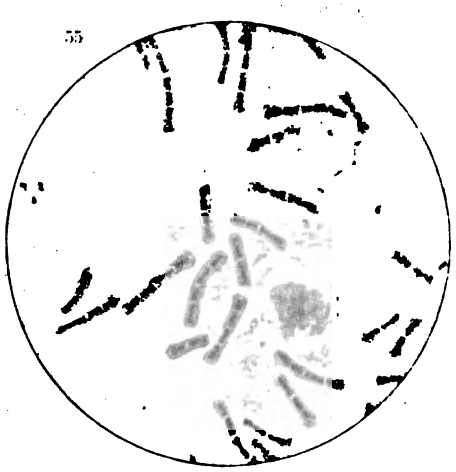
Digitized by Google

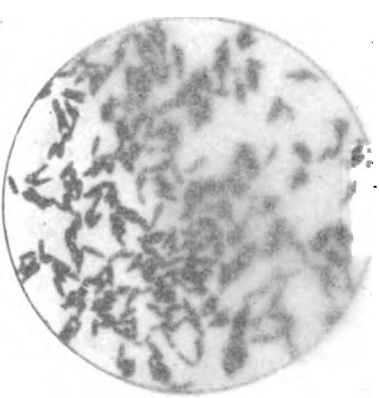












Digitized by Google

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY
OF
CALIFORNIA

Digitized by Google

Tafel X.

Digitized by Google

Nr. 57. **Große Spirillen** verschiedener Art nebst anderen Bakterien aus Sielwasserschlamm. Fuchsin. Die dickeren, dem Spirillum undula ähnlichen zeigen spärliche, die schmäleren, etwa an Spirillum volutans erinnernden Formen haben reichlichere Hohlräume im Innern, die, wie E. Zettnow (C. 19. 177) darlegte, beim freiwilligen Absterben der Vibrionen in immer größer werdender Anzahl auftreten. Diesen sehr großen Spirillen gegenüber zeigt

Nr. 58. **Spirillum parvum** als die kleinsten bekannten Spirillen, die E. v. Esmarch in einem durch Berkefeldfilter geschickten Fäulnisgemisch fand, das sie als die einzigen züchtbaren Keime passiert hatten. Dieses Spirillum wird von keinem der üblichen Hartfilter mit Sicherheit zurückgehalten, wohl aber von einem richtig bereiteten Asbestfilter. S. 35. Das Bild zeigt den Abstrich von einer 6 Tage alten Gelatinekultur, die bei 20° gewachsen war. Fuchsin.

Nr. 59. **Choleravibrionen-Kolonien** auf 2 Tage alter Gelatineplatte, 35fach. Man sieht verschiedene Stadien der Entwicklung, von den leicht gezähnelten großen, die in die verflüssigte Gelatine eingesunken sind, bis zu ganz jungen, im Aufkeimen begriffenen Ansiedlungen, die als erstes Zeichen ihres Verflüssigungsvermögens einen hellen Saum um sich haben. Je tiefer eine Kolonie eingesunken ist, desto dunkler und breiter erscheint der Grenzwall von Gelatine unter dem langbrennweitigen Objektiv, hier einem 35 mm-Apochromaten.

Nr. 60. **Choleravibrionen.** Rand eines Oberflächenhäutchens, gewachsen auf Rinderblutkuchenwasser.

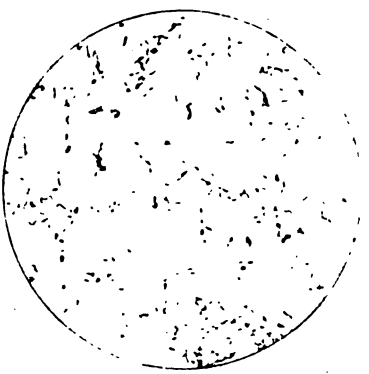
Nr. 61. **Choleravibrionen** mit Geißeln, gefärbt nach der Loefflerschen Methode. Die Choleravibrionen besitzen nur eine polständige Geißel. S. 431.

Nr. 62. **Choleravibrionen** im Darminhalt eines Cholerakranken. Fuchsin.

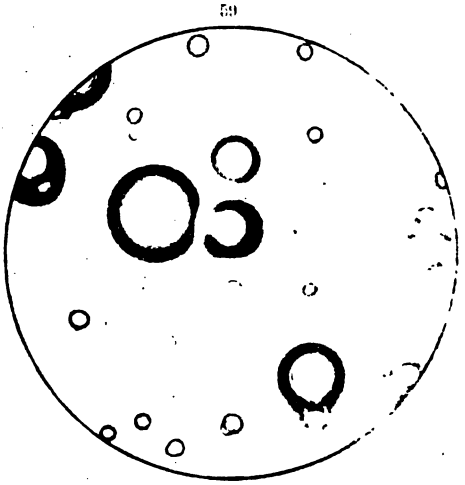
Digitized by Google

57

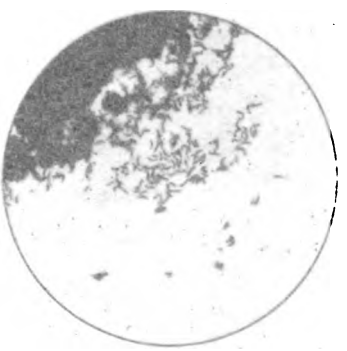
58



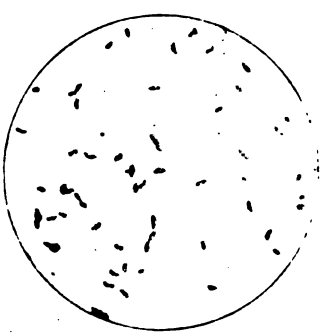
59

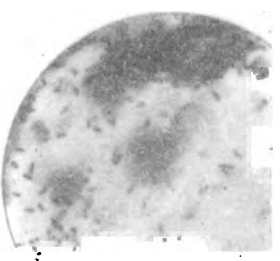


60



61





Digitized by Google

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY
OF
CALIFORNIA

Digitized by Google

Tafel XI.

Digitized by Google

Nr. 63. **Spirochäten und spießförmige Bazillen** in einem Mandelpfropf vom Gesunden. Fuchsin. Die Spirochäten mit verschiedenen engeren und flacheren Windungen beherrschen das Gesichtsfeld. Fusiforme Bazillen sind nur in geringer Zahl vorhanden; sie sind entweder gerade oder gekrümmt und weisen zum Teil im Innern stärker gefärbte Kugeln unterschiedlicher Größe auf. S. 373 und 458.

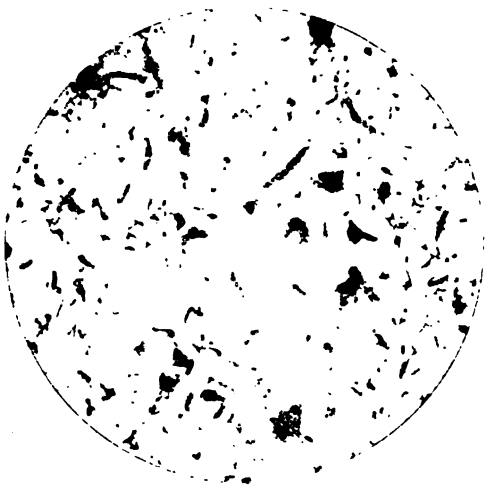
Nr. 64. Ausstrich von **Pulpagangrän.** Neben einem als Leptothrix anzusprechenden büschelförmigen Gebilde sind, ähnlich wie in Fig. 25, Vibrionen und eine lange, flach gewundene Spirochäte vorhanden. S. 364.

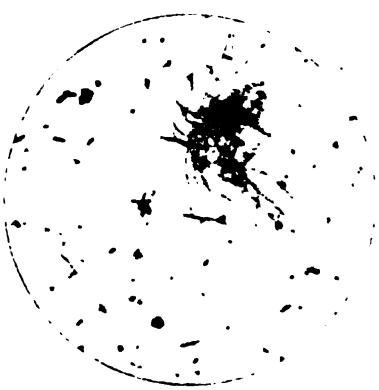
Nr. 65 und 66. **Spirochäten** in einem syphilitischen Primäraffekt, gefärbt mit Giemsalösung. Unter den Spirochäten verschiedener Länge und Dünne ist die in Fig. 65 links mit ihrem Ende an eine Zelle stoßende im Photogramm am ehesten als Spirochaete pallida anzusprechen. (Präparat von Herrn L. Hauck.) S. 455.

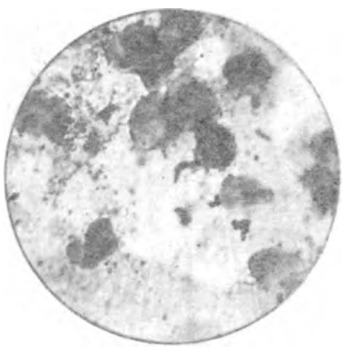
Nr. 67. **Ulcus molle.** Ausstrich aus einem Inokulationsschanker, 9. Generation vom 4. Tag. Fuchsin. Die kleinen Bazillen liegen zumeist in Leukozyten und zeigen darin an einer Stelle eine kettenförmige Anordnung.

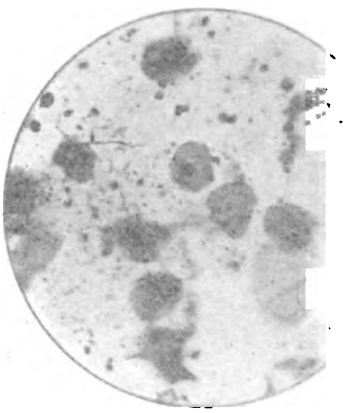
Nr. 68. **Streptobacillus ulceris mollis,** 36 Stunden alte Kultur der 3. Generation. Fuchsin. (Beide Präparate von Herrn E. Tomasczewski.) S. 453 und 454.

Digitized by Google

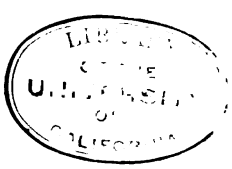








Digitized by Google



Digitized by Google

Tafel XII.

Digitized by Google

Nr. 69. **Spirochaete Obermeieri.** Rekurrensspirochäten aus Wanzenmagen. (Präparat von Herrn J. Karlinski.) S. 459.

Nr. 70. **Oidium lactis,** auf sehr dünner Schicht Gelatine 1 Tag gezüchtet, um die einzelnen Glieder möglichst in eine Ebene zu bekommen, und ungefärbt aufgenommen. 500fach. Die walzenförmigen Körper enthalten im Innern Vakuolen und Körnchen und liegen oft winklig zueinander, was für sie bezeichnend ist. S. 314.

Nr. 71. **Oidium albicans.** Kultur des Soorpilzes in Gelatine, gehärtet, in Schnitte zerlegt und mit Methylenblau gefärbt. 250fach. Ein Ausläufer, der vom Impfstich seitlich abgeht, ist hier aufgenommen und zeigt die an den Mycelfäden sitzenden Sproßformen. S. 315.

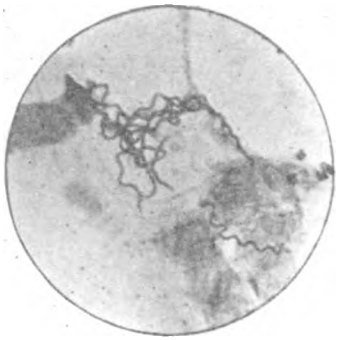
Nr. 72. **Penicillium glaucum,** 182fach. Über die Benennungen der einzelnen Teile des Thallus und insbesondere der Fruchtträger s. S. 318 und 319.

Nr. 73. **Mucor racemosus,** 175fach. Auf einem Stück angefeuchteten Roggenbrotes gewachsen. Die Columella scheint durch die äußere Hülle des Sporangiums, dessen Hülle durch einen leichten Druck aufs Deckglas zum Platzen gebracht wurde. Aus dem Einriß beginnen die Sporen auszutreten.

Nr. 74. **Aspergillus fumigatus,** 250fach. Auf Brotbrei gezüchtet. S. 318.

Digitized by Google

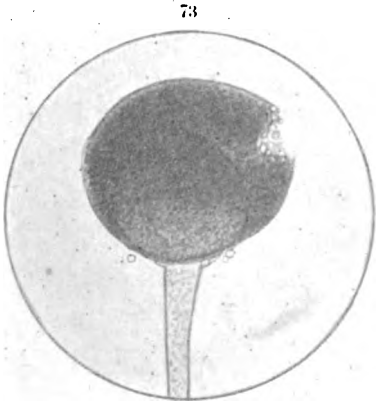
69



70

71

73



Digitized by Google

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY
OF
CALIFORNIA

Digitized by Google

Tafel XIII.

Digitized by Google

Nr. 75. **Favus.** Kopfhaar. Präparat von Herrn Pick.

Nr. 76. **Favus.** Kultur in hängendem Tropfen. Präparat von Herrn H. C. Plaut.

Nr. 77. **Mykosis tonsurans.** Präparat von Herrn Pick. Die drei Präparate stammen aus der Ausstellung für Volkshygiene von Herrn Lingner und sind bei 200facher Vergrößerung aufgenommen.

Malariaparasiten:

Nr. 78. **Febris tertiana;** Jugendform. Die Vergrößerung des befallenen roten Blutkörperchens spricht dafür, daß es sich um einen Tertianaring handelt.

Nr. 79 und 80. **Febris tertiana,** herangewachsene Parasiten aus einem und demselben Gesichtsfeld.

Nr. 81. **Febris quartana.** Der bandförmige Parasit sitzt in einem nicht vergrößerten Blutkörperchen.

Nr. 82. **Febris tropica,** Jugendform (Ringe), im nicht vergrößerten Blutkörperchen, darüber ein Halbmond, die geschlechtliche Form des Parasiten. (Sämtliche Präparate von Herrn Nocht.) S. 462 bis 465.

Nr. 83. **Mückenlarven** und **Puppe.** Die Exemplare sind aus einem Tümpel gefischt und in einer Küvette in ungefähr natürlicher Größe aufgenommen worden. Das herabhängende Exemplar hat die Stellung des Culex, das daneben befindliche hängt längs der Wasseroberfläche in der Stellung des Anopheles. Im unteren Bilde ist links eine Puppe an die Oberfläche gekommen.

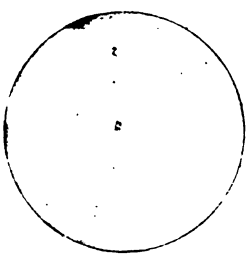
Digitized by Google

75

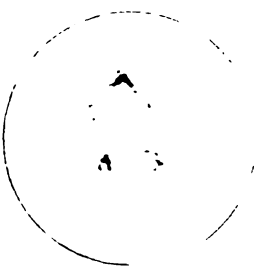
76

77

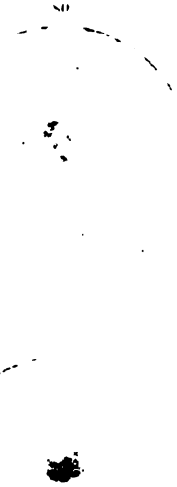
78



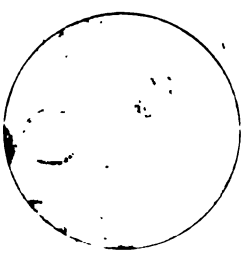
79



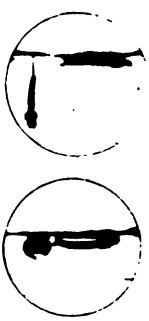
80



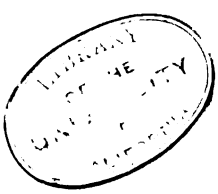
81



82



Digitized by Google



Digitized by Google

Verlag von FERDINAND ENKE in Stuttgart.

Lehrbuch der Hygiene

von

Prof. Dr. L. Heim

Mit 43 Abbildungen. gr. 8°. 1903. geh. M. 8.—; in Leinwand geb. M. 9.—

Ascher, Dr. med. L., Der Einfluss des Rauches auf die Atmungsorgane. Eine sozialhygienische Untersuchung für Mediziner, Nationalökonomen, Gewerbe- und Verwaltungsbeamte, sowie für Feuerungstechniker. Mit 4 Abbildungen und zahlreichen Tabellen. gr. 8°. 1905. geh. M. 1.60.

Baginsky, Prof. Dr. Ad., Handbuch der Schulhygiene zum Gebrauche für Aerzte, Sanitätsbeamte, Lehrer, Schulvorstände und Techniker. Mit Unterstützung von **Otto Janke**, Lehrer an der Gemeindeschule in Berlin. **Dritte, vollständig umgearbeitete Auflage.** Zwei Bände. Mit 256 in den Text gedruckten Abbildungen. gr. 8°. 1900. geh. M. 26.—

Ebstein, Geheimrat Prof. Dr. W., Dorf- und Stadthygieine. Unter besonderer Rücksichtnahme auf deren Wechselbeziehungen für Aerzte und die mit der Wahrnehmung der Interessen der öffentlichen Gesundheitspflege betrauten Verwaltungsbeamten. Mit 2 Abbildungen. gr. 8°. 1902. geh. M. 4.—

Kröhnke, Dr. O., Die Reinigung des Wassers für häusliche und gewerbliche Zwecke. Mit 33 Abbildungen. gr. 8°. 1900. geh. M. 3.60.

Stavenhagen, Prof. Dr. A., Einführung in das Studium der Bakteriologie und Anleitung zu bakteriologischen Untersuchungen für Nahrungsmittelchemiker. Mit 88 in den Text eingedruckten Abbildungen. 8°. 1895. geh. M. 4.—

Weichardt, Privatdozent Dr. W., Serologische Studien auf dem Gebiete der experimentellen Therapie. Mit 98 Kurven. gr. 8°. 1906. geh. M. 2.80.

Wernich, Dr. A., und Wehmer, Dr. R., Lehrbuch des öffentlichen Gesundheitswesens. gr. 8°. 1894. geh. M. 18.—

Ziegeler, Dr. G. A., Die Analyse des Wassers. Nach eigenen Erfahrungen bearbeitet. Mit 32 Holzschnitten. 8°. 1887. geh. M. 3.—

Digitized by Google

Verlag von FERDINAND ENKE in Stuttgart.

Soeben erschien vollständig

in zweiter, vollständig umgearbeiteter Auflage das

Handbuch der praktischen Medizin.

Bearbeitet von

Geh. Medizinalrat Prof. Dr. **Brieger** in Berlin, Prof. Dr. **Damsch** in Göttingen, Prof. Dr. **Dehio** in Dorpat, Geh. Medizinalrat Prof. Dr. **Ebstein** in Göttingen, Prof. Dr. **Edinger** in Frankfurt a. M., Prof. Dr. **Epstein** in Prag, Dr. **Finlay** in Havanna, Geh. Medizinalrat Prof. Dr. **Fürbringer** in Berlin, Prof. Dr. E. **Grawitz** in Charlottenburg, Geh. Medizinalrat Prof. Dr. **Harnack** in Halle a. S., Prof. Dr. **Jadassohn** in Bern, I. Oberarzt Dr. **Kümmell** in Hamburg, Prof. Dr. **Lassche** in Christiania, Prof. Dr. **Lenhartz** in Hamburg-Eppendorf, Prof. Dr. **Lorenz** in Graz, Stabsarzt Prof. Dr. **Marx** in Frankfurt a. M., Prof. Dr. **Mendel** in Berlin, Prof. Dr. **Nicolaier** in Berlin, Prof. Dr. **Obersteiner** in Wien, Hofrat Prof. Dr. **Přibram** in Prag, Prof. Dr. **Redlich** in Wien, Oberarzt Dr. **Reiche** in Hamburg-Eppendorf, Prof. Dr. **Romberg** in Tübingen, Prof. Dr. **Rosenstein** in Leiden; Prof. Dr. **Rumpf** in Bonn, Prof. Dr. **Schwalbe** in Berlin, Prof. Dr. **Sticker** in Münster i. W., Prof. Dr. **Strübing** in Greifswald, Medizinalrat Prof. Dr. **Unverricht** in Magdeburg, Prof. Dr. **Wassermann** in Berlin, Geh. Medizinalrat Prof. Dr. **Ziehen** in Berlin.

Unter Redaktion von

Dr. W. Ebstein und **Prof. Dr. J. Schwalbe**

Geh. Medizinalrat, o. Professor in Göttingen — Herausgeber der Deutschen med. Wochenschrift

herausgegeben von **W. Ebstein.**

Vier Bände.

232 Bogen. Mit 261 Textabbildungen. gr. 8°. 1905/06.

Geh. M. 77.—, in Leinw. geb. M. 85.—

I. Band: **Krankheiten der Atmungs-, der Kreislaufsorgane, des Blutes und der Blutdrüsen.** 67 Bogen. Mit 75 Textabbildungen. gr. 8°. 1905. Geh. M. 22.—, in Leinw. geb. M. 24.—

II. Band: **Krankheiten der Verdauungs-, der Harnorgane und des männlichen Geschlechtsapparates. Venerische Krankheiten.** 61 Bogen. Mit 54 Textabbildungen. gr. 8°. 1905. Geh. M. 20.—, in Leinw. geb. M. 22.—

III. Band: **Krankheiten des Nervensystems (mit Einschluß der Psychosen). Krankheiten der Bewegungsorgane.** 59 Bogen. Mit 81 Textabbildungen. gr. 8°. 1905. Geh. M. 20.—, in Leinw. geb. M. 22.—

IV. Band. **Infektionskrankheiten, Zoonosen, Konstitutionskrankheiten, Vergiftungen durch Metalle, durch Tier- und Fäulnisgifte.** 45 Bogen. Mit 51 Abbildungen. gr. 8°. 1906. Geh. M. 15.—, in Leinw. geb. M. 17.—

Die erste Hälfte des I. Bandes des Handbuchs erschien im März 1905, mithin ist die neue Auflage innerhalb Jahresfrist vollendet worden! Da auch jede Umfangüberschreitung vermieden wurde, ist das „Handbuch der praktischen Medizin" in seiner neuen Auflage unter ähnlichen Werken früherer und jetziger Zeit tatsächlich eines der gedrängtesten und billigsten Sammelwerke über das Gesamtgebiet der inneren Medizin, und vermöge der letzteren Eigenschaft seine Anschaffung einem jeden Arzte ermöglicht.

Von dem die „Chirurgie des praktischen Arztes" wie die Augen-, Ohren- und Zahnkrankheiten enthaltenden **Ergänzungsband** zu der zweiten Auflage des Handbuchs der praktischen Medizin, der einzeln käuflich ist, ist soeben die erste Hälfte im Umfange von 24 Bogen zum Preise von 8 Mk. erschienen. (Die zweite Hälfte, ungefähr in gleicher Stärke, erscheint im Herbst dieses Jahres.)

Digitized by Google

Bibliothek des Arztes.

Eine Sammlung medizinischer Lehrbücher

für Studierende und Praktiker.

Verlag von Ferdinand Enke in Stuttgart.

Bisher erschienene Bände:

Bernstein, Prof. Dr. J., **Lehrbuch der Physiologie des tierischen Organismus, im Speziellen des Menschen.** Zweite, umgearbeitete Auflage. Mit 276 Abbildungen. gr. 8°. 1900. geh. 14 M.

Bürkner, Prof. Dr. K., **Lehrbuch der Ohrenheilkunde.** Für Studierende und Aerzte. Mit 136 Holzschnitten. gr. 8°. 1892. geh. 9 M.

Fehling, Prof. Dr. H., **Lehrbuch der Frauenkrankheiten.** Dritte völlig neu bearbeitete Auflage. Mit 229 Abbildungen. gr. 8°. 1906. geh. 9 M., in Leinw. geb. 10 M.

Fleiner, Prof. Dr. W., **Lehrbuch der Krankheiten der Verdauungsorgane.** 1. Hälfte. Krankheiten der Mund- und Rachenhöhle, der Speiseröhre und des Magens. Mit 20 Abbildungen. gr. 8°. 1896. geh. 10 M.

Geigel, Prof. Dr. R., und **Voit,** Prof. Dr. Fr., **Lehrbuch der klinischen Untersuchungsmethoden.** Mit 172 in den Text gedruckten Abbildungen und einer Farbentafel. gr. 8°. 1895. geh. 12 M.

Glax, Prof. Dr. J., **Lehrbuch der Balneotherapie.** Zwei Bände.
Erster Band: Allgemeine Balneotherapie. Mit 99 in den Text eingedruckten Abbildungen. gr. 8°. 1897. geh. M. 10.—
Zweiter Band: Spezielle Balneotherapie. gr. 8°. 1899. geh. M. 14.—

Heim, Prof. Dr. L., **Lehrbuch der Bakteriologie** mit besonderer Berücksichtigung der Untersuchungsmethoden, Diagnostik und Immunitätslehre. Dritte, vollständig umgearbeitete Auflage. Mit 233 Abbildungen im Text und 13 mikrophotographischen Tafeln. gr. 8°. 1906. geh. M. 14.60, in Leinw. geb. M. 16.—

Heim, Prof. Dr. L., **Lehrbuch der Hygiene.** Mit 43 Abbildungen im Text. gr. 8°. 1903. geh. 8 M., in Leinw. geb. 9 M.

Hirt, Prof. Dr. L., **Lehrbuch der Elektrodiagnostik und Elektrotherapie.** Für Studierende und Aerzte. Mit 87 Abbildungen. gr. 8°. 1893. geh. 7 M.

Hoffa, Prof. Dr. A., **Lehrbuch der orthopädischen Chirurgie.** Fünfte Auflage. Mit 870 in den Text gedruckten Abbildungen. gr. 8°. 1905. geh. 21 M. In Leinw. geb. 23 M.

Hoffmann, Prof. Dr. Fr. A., **Lehrbuch der Konstitutionskrankheiten.** Mit zahlreichen Kurven. gr. 8°. 1893. geh. 10 M.

Digitized by Google

Kaltenbach, Prof. Dr. R., **Lehrbuch der Geburtshülfe.** Mit 102 Abbildungen im Text und 2 Farbentafeln. gr. 8°. 1893. geh. 13 M.

Kennel, Prof. Dr. J., **Lehrbuch der Zoologie.** Mit 310 Abbildungen im Text, enthaltend gegen 1000 Einzeldarstellungen. gr. 8°. 1893. geh. 18 M.

Kobert, Prof. Dr. R., **Lehrbuch der Intoxikationen.** Zweite, durchweg neubearbeitete Auflage. Zwei Bände. I. Band: Allgemeiner Teil. Mit 69 Abbildungen im Text. gr. 8°. 1902. geh. 7 M. II. Band: Spezieller Teil. Mit 142 Abbildungen im Text. gr. 8°. 1906. geh. 27 M.

Kobert, Prof. Dr. R., **Lehrbuch der Pharmakotherapie.** Mit 15 Tabellen. gr. 8°. 1897. geh. 14 M.

Krukenberg, Dr. H., **Lehrbuch der mechanischen Heilmethoden.** Mit 147 Abbildungen. gr. 8°. 1896. geh. 7 M.

Schultze, Prof. Dr. Fr., **Lehrbuch der Nervenkrankheiten.** Zwei Bände. Erster Band: Destruktive Erkrankungen des peripheren Nervensystems, des Sympathicus, des Rückenmarks und seiner Häute. Mit 53 zum Teil farbigen Textfiguren und 4 Tafeln in Farbendruck. gr. 8°. 1898. geh. 12 M.

Seydel, Prof. Dr. K., **Lehrbuch der Kriegschirurgie.** Zweite Auflage. Mit 271 Abbildungen. gr. 8°. 1905. geh. 10 M., in Leinw. geb. M. 11.20.

Strassmann, Prof. Dr. Fr., **Lehrbuch der gerichtlichen Medizin.** Mit 78 in den Text gedruckten Abbildungen und einer Tafel in Farbendruck. gr. 8°. 1895. geh. 16 M.

Thoma, Prof. Dr. R., **Lehrbuch der pathologischen Anatomie** mit Berücksichtigung der allgemeinen Pathologie. Zwei Teile. I. Teil: Allgemeine pathologische Anatomie mit Berücksichtigung der allgemeinen Pathologie. Mit 436 Abbildungen im Text und 4 Tafeln in Farbendruck. gr. 8°. 1894. geh. 18 M.

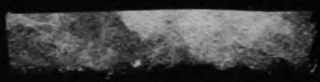
Wernich, Regierungs- und Med.-Rath Dr. A., und **Wehmer,** Regierungs- und Med.-Rath Dr. R., **Lehrbuch des öffentlichen Gesundheitswesens.** gr. 8°. 1894. geh. 18 M.

Winiwarter, Prof. Dr. A. von, **Lehrbuch der chirurgischen Operationen und der chirurgischen Verbände.** Mit 60 in den Text gedruckten Holzschnitten. gr. 8°. 1895. geh. 12 M.

Wolff, Prof. Dr. A., **Lehrbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten.** Für Aerzte und Studierende. Mit 97 Abbildungen. gr. 8°. 1893. geh. 15 M.

Digitized by Google

Digitized by Google



Digitized by Google

YD 23

217806

BIOL. LIBRARY G

QR41
H39
1906

THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA LIBRARY

Digitized by Google